

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *Hermodice carunculata* (POLYCHAETA: AMPHINOMIDAE) EN AMBIENTES PROTEGIDO Y EXPUESTO AL OLEAJE EN ISLA FUERTE, CARIBE COLOMBIANO.**

**ESTER ACSAMI GUERRA SALCEDO**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
MONTERÍA-CÓRDOBA**

**2020**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *Hermodice carunculata* (POLYCHAETA: AMPHINOMIDAE) EN AMBIENTES PROTEGIDO Y EXPUESTO AL OLEAJE EN ISLA FUERTE, CARIBE COLOMBIANO.**

**ESTER ACSAMI GUERRA SALCEDO**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de  
Biólogo**

**DIRECTORES**

**GILMAR SANTAFE PATIÑO, Dr. Sc**

**Docente, Programa de Química, Universidad de Córdoba**

**JORGE ALEXANDER QUIRÓS RODRIGUEZ, M. Sc**

**Docente, Programa de Biología, Universidad de Córdoba**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS**

**PROGRAMA DE BIOLOGÍA**

**MONTERÍA-CÓRDOBA**

**2020**

La responsabilidad ética, legal y científica de las ideas, conceptos y resultados del proyecto serán de los autores (Artículo 61 Estatuto de investigación y Extensión de la Universidad de Córdoba. Acuerdo NO 093 del 26 de noviembre de 2002, Consejo Superior)

## **NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

---

**GILMAR SANTAFE PATIÑO, Dr. Sc.**

Universidad de Córdoba

**JORGE ALEXANDER QUIRÓS RODRÍGUEZ, M.Sc**

Universidad de Córdoba

Directores del trabajo de grado

---

**JUAN BAUTISTA YEPES ESCOBAR M.Sc.**

Universidad de Córdoba

Jurado Evaluador

---

**ALBERTO ANTONIO ANGULO ORTÍZ, M.Sc.**

Universidad de Córdoba

Jurado Evaluador

**Montería-Colombia, 2020.**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por todas las coronas de favores y misericordia que ha puesto en mi vida y por haberme dado la sabiduría para conquistar esta meta.

A la Universidad de Córdoba y al cuerpo de docentes del programa de Biología, por depositar, fortalecer y acrecentar el conocimiento profesional, ético y moral en mi formación académica.

Al semillero MARINOS, en donde aprendí el liderazgo y amor por la investigación.

A mis directores Gilmar Santafé Patiño y Jorge Alexander Quirós Rodríguez por su dedicación, enseñanza, respaldo y confianza.

A los jurados Juan Yepes Escobar y Alberto Angulo Ortiz por su valiosa participación y corrección en la realización de este trabajo.

A mis amigos, Ladis Negrette, Cristian Moreno y Yomira Enamorado por su motivación en el desarrollo de este estudio.

A Cleiver Cuadrado por su contribución en la fase de campo y a la señora Roquelina Alvares por su atención y cariño.

Al laboratorio de Química de los Productos Naturales, en especial a Manuel Camilo Salgado por su colaboración.

A Juan Vergara, por su ayuda en los análisis estadísticos.

A María José Caraballo por aportar sus conocimientos a esta investigación.

A Andrés Márquez Ramos, por sus palabras de aliento y acompañamiento desde en el transcurso de la carrera.

A Rosiris Arteaga y Paula Barrios por su apoyo incondicional.

Por ultimo y no menos importante, a mi familia en especial a mi madre, por su fe, amor, entrega, oraciones, sacrificios y porque siempre creyó en mí. Mil gracias.

## DEDICATORIA

*Principalmente a Dios por amarme y permitirme cumplir este sueño. A mis padres Amaury Guerra y María Eugenia Salcedo, mis hermanos Daniel, David, Benjamín, Ruth y María Elizabeth, a Andrés Márquez y Paula Barrios, porque siempre creyeron en mis capacidades y vieron en mi un ejemplo de superación, responsabilidad, compromiso, esfuerzo y disciplina.*

*Los amo.*

*Ester Acsami Guerra Salcedo.*

## TABLA DE CONTENIDO

### RESUMEN

ABSTRACT	Pág.
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS .....	3
2.1. General .....	3
2.2. Específicos .....	3
3. ESTADO DEL ARTE .....	4
3.1 Antecedentes .....	4
3.2. Marco Teórico .....	6
3.2.1. <i>Hermodice carunculata</i> .....	6
3.2.2. Estrés oxidativo .....	7
3.2.3. Actividad antioxidante .....	7
3.2.4. Compuestos bioactivos .....	7
3.2.5 Aposematismo .....	8
3.2.6. Ambientes protegidos del oleaje .....	8
3.2.7. Ambientes expuestos al oleaje .....	8
4. DISEÑO METODOLÓGICO .....	9
4.1. Área de estudio .....	9
4.2 Fase de Campo .....	10
4.2.1. Recolección del material biológico .....	10
4.2.2. Medición de las variables ambientales .....	11
4.3 Fase de laboratorio .....	11
4.3.1 Obtención del extracto .....	11

4.3.2 Determinación de la actividad antioxidante .....	11
4.3.2.1 Método radical DPPH .....	12
4.3.2.1.2 Preparación solución madre de DPPH: .....	12
4.3.2.1.3 Preparación de la solución madre del extracto .....	12
4.3.2.1.4 Evaluación de la muestra DPPH.....	12
4.3.2.2. Método radical ABTS.....	13
4.3.2.2.1 Preparación solución madre de ABTS:.....	13
4.3.2.2.2 Preparación de la solución madre del extracto .....	13
4.3.2.2.3 Evaluación de la muestra ABTS. ....	14
4.4. Análisis de datos.....	15
5. RESULTADOS .....	16
5.1 Ensayo de decoloración del radical 1-1-Difenil-2-Picrilhidrazilo (DPPH•) y 2,2-azinobis-(ácido3-etilbenzotiazolona-6-sulfónico) (ABTS•+). ....	16
5.1.1 Preparación de la curva de referencia .....	16
5.1.1.2 Concentración inhibitoria media (IC50).....	18
5.1.1.2.1 Determinación del IC50 para el radical DPPH•.....	18
5.1.1.2.2 Determinación del IC50 para el radical ABTS•+.....	22
5.2 Variables de estudio .....	27
5.2.1 Análisis por sector .....	28
5.2.2 Análisis por época .....	29
5.3. Análisis de componentes principales (ACP) .....	30
6. DISCUSIÓN .....	32
6.1 Actividad antioxidante .....	32
6.2 Actividad antioxidante de ambiente protegido y expuesto al oleaje.....	33
6.3 Actividad antioxidante de <i>Hermodice carunculata</i> asociada a talla y coloración. ....	35



7. CONCLUSIONES.....	37
8. RECOMENDACIONES .....	38
9. BIBLIOGRAFIA .....	39
10. ANEXOS.....	50

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Área de estudio y ubicación geográfica de los puntos de muestreo (El latal, El inglés) de Isla Fuerte, Caribe colombiano. Elaborado por Juan Vergara en QGIS 3.14.1 .....	9
<b>Figura 2.</b> Curva de referencia del porcentaje de inhibición de DPPH• v/s concentración del extracto metanólico de Hermodice carunculata de ambiente expuesto al oleaje en época seca.....	18
<b>Figura 3.</b> Curva de referencia del porcentaje de inhibición de DPPH• v/s concentración del extracto metanólico de Hermodice carunculata de ambiente protegido del oleaje en época seca. ....	19
<b>Figura 4.</b> Curva de referencia del porcentaje de inhibición de DPPH• v/s concentración del extracto metanólico de Hermodice carunculata de ambiente expuesto al oleaje en época lluviosa. ....	20
<b>Figura 5.</b> Curva de referencia del porcentaje de inhibición de DPPH• v/s concentración del extracto metanólico de Hermodice carunculata de ambiente protegido del oleaje en época lluviosa. ....	21
<b>Figura 6.</b> Curva de referencia del porcentaje de inhibición de ABTS+• v/s concentración del extracto metanólico de Hermodice carunculata de ambiente expuesto al oleaje en época seca.....	22
<b>Figura 7.</b> Curva de referencia del porcentaje de inhibición de ABTS+• v/s concentración del extracto metanólico de Hermodice carunculata de ambiente protegido del oleaje en época seca. ....	23
<b>Figura 8.</b> Curva de referencia del porcentaje de inhibición de ABTS+• v/s concentración del extracto metanólico de Hermodice carunculata de ambiente expuesto al oleaje en época lluviosa. ....	24
<b>Figura 9.</b> Curva de referencia del porcentaje de inhibición de ABTS+• v/s concentración del extracto metanólico de Hermodice carunculata de ambiente protegido del oleaje en época lluviosa. ....	25
<b>Figura 10.</b> Coloración de los individuos. A. Mayor y menor coloración B. Asociación entre la coloración con las épocas climáticas.....	27
<b>Figura 11.</b> Promedio y desviación de las variables por sector. <b>A.</b> Precipitación. <b>B.</b> Temperatura. <b>C.</b> Talla. ....	28

<b>Figura 12.</b> Promedio y desviación de las variables por época. <b>A.</b> Precipitación. <b>B.</b> Temperatura. <b>C.</b> Talla. ....	29
---	----

<b>Figura 13.</b> Análisis multivariante (ACP) teniendo en cuenta las variables de estudio. ....	31
--	----

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Porcentajes de inhibición del radical DPPH• empleado en los extractos obtenidos de la especie *Hermodice carunculata* de ambiente protegido y expuesto al oleaje, en época seca y lluviosa.

..... 16

**Tabla 2.** Porcentaje de inhibición del radical ABTS<sup>+</sup>• empleado en los extractos obtenidos de la especie *Hermodice carunculata* de ambiente protegido y expuesto al oleaje, en época seca y lluviosa.

..... 17

**Tabla 3.** Concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>) para el radical DPPH y ABTS de los extractos de ambiente expuesto y protegido de época seca y lluviosa. .26

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo A.</b> Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical DPPH• en extractos de ambiente expuesto en época seca.....	45
<b>Anexo B.</b> Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical DPPH• en extractos de ambiente protegido en época seca .....	50
<b>Anexo C.</b> Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical DPPH• en extractos de ambiente expuesto en época lluviosa.....	51
<b>Anexo D.</b> Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical DPPH• en extractos de ambiente protegido en época lluviosa. ....	51
<b>Anexo E.</b> Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical ABTS•+ en extractos de ambiente expuesto en época seca.....	52
<b>Anexo F.</b> Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical ABTS•+ en extractos de ambiente protegido en época seca.....	52
<b>Anexo G.</b> Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical ABTS•+ en extractos de ambiente expuesto en época lluviosa.....	52
<b>Anexo H.</b> Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical ABTS•+ en extractos de ambiente protegido en época lluviosa. ....	53
<b>Anexo I.</b> pruebas de normalidad y homocedasticidad a las variables de estudio. ....	53
<b>Anexo J.</b> variable temperatura medida en campo.....	53
<b>Anexo K.</b> Variable precipitación, época seca y lluviosa. ....	54
<b>Anexo L.</b> Talla de los organismos recolectados en ambiente expuesto y protegido en poca seca y lluviosa. ....	54
<b>Anexo M.</b> Recolección de la especie <i>Hermodice carunculata</i> , en los sectores de estudio.....	50
<b>Anexo N.</b> Extracto metanólico primario de ambiente protegido y expuesto al oleaje.....	50
<b>Anexo O.</b> Identificación de la especie <i>Hermodice carunculata</i> en el laboratorio de zoología de la universidad de Córdoba. Fotografía: Ester Guerra.....	51

## RESUMEN

El gusano de fuego *Hermodice carunculata* PALLAS, 1766 pertenece a la familia amphinomidae, se caracteriza por su urticante mordida y por la presencia de quetas calcificadas que recubren todo su cuerpo, no obstante, su coloración aposemática es lo más llamativo de esta especie. Estos organismos presentan coloraciones variadas y brillantes y algunos pueden alcanzar gran tamaño. Con este trabajo se evaluó la actividad antioxidante por los métodos del radical DPPH• y ABTS•+ del extracto metanólico primario de la especie *Hermodice carunculata* de ambiente expuesto y protegido del oleaje, recolectado en época seca y lluviosa, por medio de búsqueda libre y de manera manual. Se determinó que la actividad antioxidante no presentaba resultados significativos ( $IC_{50} > 1000$  mg/ml), pero los valores de  $IC_{50}$  permitieron llevar el estudio a la comparación de los extractos por la posibilidad de metabolitos secundarios activos. La concentración inhibitoria media ( $IC_{50}$ ) presentó variaciones entre los dos sectores, de manera que los de ambientes expuestos se consideraron con “mejor actividad” al tener menor concentración que el resto. Por otra parte, estos valores se vieron influenciados por la acción del oleaje, los valores más alejados de la actividad, se asociaban a los ambientes de bajo impacto de las olas, por consiguiente, se sumaba a ello el efecto de la temperatura y las precipitaciones, igualmente la coloración y el tamaño fue un factor fundamental para atribuirlo a la actividad antioxidante de *Hermodice carunculata*. Se comprobó a través de un análisis de componentes principales que los ejemplares de color amarillo y gran tamaño presentaban baja actividad en comparación con aquellos de color marrón y de menor talla.

**Palabras claves:** Gusano de fuego, actividad antioxidante, oleaje, coloración, compuestos activos, metabolitos secundarios.

## ABSTRACT

The fireworm *Hermodice carunculata* PALLAS, 1766 belongs to the family amphinomididae, is characterized by its hive bite and the presence of calcified quetas that cover its entire body, however, its aposematic coloration is the most striking of this species. These organisms have varied and bright colors and some can reach large size. With this work, antioxidant activity was evaluated by the methods of the radical DPPH• and ABTS+• of the primary metabolic extract of the species *Hermodice carunculata* of exposed environment and protected from the swell, collected in dry and rainy season, by means of free search and manually. Antioxidant activity was determined to have no significant results ( $IC_{50} > 1000$  mg/ml), but  $IC_{50}$  values allowed the study to be brought to comparison of extracts by the possibility of active secondary metabolites. The mean inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) had variations between the two sectors, so that those in exposed environments were considered "better activity" as they had lower concentration than the rest. On the other hand, these values were influenced by the action of the swell, the values furthest from the activity, were associated with the low impact environments of the waves, therefore, the effect of temperature and precipitation was added to it, also the coloration and size was a fundamental factor to attribute it to the antioxidant activity of *Hermodice carunculata*. It was proven through an analysis of main components that yellow and large specimens had low activity compared to those of brown and smaller size.

**Keywords:** Fireworm, antioxidant activity, swell, coloration, active compounds, secondary metabolites.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los poliquetos pertenecen a la clase Polychaeta, definida dentro de los anélidos por la forma de su cuerpo y hábitos. Estos organismos son ampliamente diversos y abundantes. Presentan un patrón de distribución cosmopolita, se hallan en todos los ambientes marinos desde las zonas intermareales hasta las profundidades abisales. Son vitales para la deposición, descomposición, incorporación y recambio de materia orgánica en el fondo marino. Además, son de gran ayuda en la estructuración, producción, dinámica y salud de los bentos (Rouse y Pleijel, 2001; Liñero-Arana y Reyes-Vásquez, 1979).

Estos invertebrados marinos representan un componente fundamental en la biota oceánica y una fuente rica de compuestos biológicamente activos. La especie *H. carunculata* o gusano de fuego, perteneciente a la familia Amphinomidae, se caracteriza por la presencia de una serie de haces de quetas calcáreas, vacías por dentro, provistas de veneno y que sirven para su defensa. Habita en las coberturas rocosas de los ambientes costeros en la que la distribución de los organismos está condicionada por factores extremos tanto físicos y biológicos, como desecación, calentamiento, depredación, competencia, disponibilidad de alimentos, tipo de sustrato y acción del oleaje, determinando el comportamiento y características de las poblaciones existentes (Cushman, 1989; Doty, 1957; Tait, 1971; Williams, 1994).

El impacto del oleaje es un factor significativo de perturbación física en la determinación de la estructura, dinámica y evolución de las poblaciones en el intermareal rocoso. (Harger, 1970; Branch & Marsh, 1978; Paine & Levin, 1981; Sousa, 1985; Denny *et al.*, 1985). En los ambientes expuestos, existen especies adaptadas capaces de soportar factores ambientales abruptos, como la acción del viento, fuerza del oleaje, el arrastre de partículas, entre otros. Por otra parte, en los ambientes protegidos, las condiciones son un poco más estables, permitiendo el asentamiento de las especies (Brattström, 1985).



Lo que implica, que los organismos marinos se vean sometidos a desarrollar mecanismos de defensa biológicos para contrarrestar el efecto conocido como estrés oxidativo. En respuesta a esos factores externos, los individuos producen sustancias o metabolitos secundarios capaces de retardar los procesos de oxidación, contribuyendo de esta forma a mantener el equilibrio bioquímico necesario a fin de sostener la supervivencia de cada organismo (Thomas, 1994; Echavarría *et al.*, 2009).

En el caribe colombiano, las investigaciones realizadas con este grupo de invertebrados marinos están orientadas a conocer sus preferencias alimenticias y simbiontes, distribución, ecología, entre otros, por lo tanto, efectuar estudios con *H. carunculata* permitirá profundizar en el análisis de sus compuestos activos. Asimismo, aportar información bioecológica sobre la formación de estas sustancias potencialmente activas. En el siguiente trabajo se logró determinar la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de *H. carunculata*, a su vez se relacionaron los extractos metanólicos de ambiente protegido con los de ambiente expuesto al oleaje en época seca y lluviosa, también se determinó la asociación de la actividad antioxidante con respecto a talla y coloración.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. General

Evaluar la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de *Hermodice carunculata*, en ambientes protegido y expuesto al oleaje en isla fuerte, Bolívar, caribe colombiano.

### 2.2. Específicos

- Determinar la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de *H. carunculata*, mediante el método DPPH y ABTS.
- Relacionar la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de *H. carunculata* de ambiente protegido con los de ambiente expuesto al oleaje en las épocas climáticas seca y lluviosa.
- Determinar la asociación de la actividad antioxidante de *H. carunculata* con respecto a talla y coloración.

### 3. ESTADO DEL ARTE

#### 3.1 Antecedentes

Los organismos marinos presentan innumerables compuestos bioactivos, lo que representa una amplia variabilidad química que reside dentro de la diversidad biológica de las especies marinas, en la que estos necesitan desarrollarse y sobrevivir en un medio muy competitivo, por lo que se han ingeniado complejas herramientas bioquímicas y fisiológicas para su química defensiva ante las agresiones del medio (McClintock *et al.*, 1993; Pérez *et al.*, 1998; Bull *et al.*, 2000; Faulkner 2000). El efecto de oleaje en si es un complejo de varios parámetros físicos que en su conjunto afectan la morfología, talla y características funcionales de los organismos que interactúan en los hábitats intermareales (Hooper *et al.*, 2005; Thomsen y Wernberg, 2005).

A nivel de la actividad antioxidante se destaca el trabajo de Pastrana *et al.* (2019) quienes estudiaron la esponja *Lotrochota birotulata* recolectada en Punta Bello Córdoba, Caribe Colombiano, para la cual se reportó modera actividad en la estabilización del radical catiónico ABTS<sup>•+</sup> y baja actividad en la estabilización del radical DPPH<sup>•</sup>, el mayor valor de inhibición se encontró en el extracto acuoso con un IC<sub>50</sub> 43.9 µg/ml, sin embargo, no se encontró el mismo resultado frente a la capacidad de estabilización del radical DPPH<sup>•</sup>, con valores más altos de IC<sub>50</sub> (139.8 µg/ml para el extracto metanólico, > 200 µg/ml para los otros. A su vez Córdova (2018), determino el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico en crudo y cocido del alga *Chondracanthus chamissoi* en Trujillo Perú, presentando baja actividad el extracto cocido, mostrando un IC<sub>50</sub> de 102.73 ug/mL por encima de los estándares estimados. Asimismo, Pastrana *et al.* (2016) determinaron el contenido total de fenoles y las actividades antioxidante y antifúngica de los extractos metanólico, acuoso y de diclorometano del pepino de mar *Isostichopus badionotus*, de la Bahía de Cispatá, encontrándose un bajo contenido de fenoles (< 6 mg EAG/g), baja actividad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH (CI<sub>50</sub> > 100 µg/mL).

Siendo así, Sandoval (2017), examinó el efecto de la exposición al oleaje sobre 159 especies de macroalgas (Rhodophyta, Chlorophyta, Phaeophyceae) de Isla de Pascua, Chile y determinó diferencias en la morfología de talos entre sitios expuestos y protegidos al oleaje. Se observó que la exposición al oleaje influye sobre la riqueza de especies y la composición de las macroalgas. Por su parte González (2013) evaluó la supervivencia, crecimiento y estructura poblacional del alga parda *Egregia menziesii*, en zonas expuestas y protegidas, antes, durante y después de eventos de oleaje de invierno, dentro la Bahía de Todos Santos, se halló una reducción significativa tanto en la supervivencia como en los parámetros poblacionales (densidad, número de frondas por individuo, longitud de frondas y meristemas intactos).

Por otro lado, Pereira y Vasconcelos (2014) obtuvieron los extractos crudos de la especie *Plocamium brasiliense* recogidas en dos lugares distintos, ensenada do Forno y Praia Rasa, Búzios, Estado de Rio de Janeiro. Los cuales fueron evaluados como defensa contra el erizo de mar *Lytechinus variegatus* y el cangrejo *Acanthonyx scutiformis*. Estos especímenes produjeron una cantidad similar de extracto crudo y también tipos de compuestos monoterpénos halogenados, pero los individuos de Praia Rasa exhibieron un compuesto principal que representa alrededor del 59% del total de productos químicos. El extracto crudo recolectado en Praia Rasa fue más eficiente como defensa contra el erizo *L. variegatus* que el extracto de las poblaciones de la ensenada do Forno, probablemente debido a la presencia de un metabolito secundario importante. Asimismo, Ávila (1993) estudió el papel de las sustancias naturales de moluscos opisthobranchios, haciendo énfasis en aspectos biológicos en el organismo y su actividad y función en el ecosistema. Analizó 16 especies de doridáceos del mediterráneo y atlántico próximo, para las que se detalló y discutió la estructura, localización y función de sus metabolitos, se comprobó que el fuerte color azul de estos animales se debe a un pigmento, ya que, al poner ácido clorhídrico en el extracto, el color viraba a rojo y al poner el NaOH viraba otra vez a azul.

## 3.2. Marco Teórico

### 3.2.1. *Hermodice carunculata*

**Características morfológicas:** Presenta un cuerpo largo y robusto; parapodio con cerdas blancas y abundantes, carúncula en forma de cojín, branquias en manojo muy ramificadas y presentes desde el primer segmento. Prostomio con 4 ojos y con 3 antenas siendo las laterales más cortas, parapodios birrameos, notopodio con setas capilares lisas y aserradas, neuropodio con setas más gruesas y extremo distal sub-bífido. La especie se denomina vernacularmente “gusano de fuego” debido a que sus quetas son urticantes. Eriza las cerdas como comportamiento de defensa, inhibiendo así la aproximación de posibles predadores (Amaral y Nonato 1994).

**Coloración:** Variada: verde olivo, amarillo, marrón, naranja (Yáñez, 2009; Liñero-Arana, 2010).

**Hábitat:** Estos organismos son abundantes y frecuentes en todos los ambientes marino y son numéricamente dominantes en la mayoría de las comunidades de sustratos blandos, tanto en número de especies como de individuos y biomasa. Igualmente se encuentran en sustratos rocosos y arenosos desde zonas intermareales hasta grandes profundidades y restringida a los arrecifes coralinos. (Dueñas, 1979).

**Alimentación:** Típicamente es una especie predadora del coral; se halló más asociada al coral *Acropora cervicornis*, del cual se alimenta y carroñera (Dueñas, 1979).

**Distribución:** Caribe Colombiano: Archipiélago de San Andrés y Providencia, Tayrona, Región de influencia del Magdalena y Arco Insular (Rodríguez, 1979; Rodríguez 1988; Dueñas, 1999).

### **Importancia ecológica:**

En este grupo existen numerosas especies que se alimentan de la materia orgánica de depósitos superficiales y subsuperficiales, por lo que contribuyen en gran medida al reciclaje de esta y a controlar su exceso en playas. La contribución de estos organismos a la trama trófica marina es asimismo importante, puesto que numerosos peces y crustáceos demersales se alimentan de ellos.

Dado al alto grado de sensibilidad mostrado por esta especie de poliquetos a cambios en las condiciones físico-químicas del medio que habitan, los convierte en candidatos ideales como posibles indicadores para monitoreos de ambientes marinos (Liñero-Arana y Diaz, 2011).

### **3.2.2. Estrés oxidativo**

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. (Ames et al., 1993).

### **3.2.3. Actividad antioxidante**

La actividad antioxidante es la capacidad que tiene un compuesto o sustancia para retrasar o prevenir significativamente la oxidación. (Reitter, 1995).

### **3.2.4. Compuestos bioactivos**

Los compuestos bioactivos son sustancias químicas naturales que se encuentran en plantas y animales, lo que se interpreta como un mecanismo de defensa química frente a factores externos causantes de estrés como la predación, el exceso de recubrimiento por organismos adherentes, o la fuerte competencia por el espacio (Norris & Fenical, 1982).

### **3.2.5 Aposematismo**

Estrategia de defensa que se basa en advertir a los depredadores, la existencia de veneno a través de coloraciones llamativas (Bradley, 2013).

### **3.2.6. Ambientes protegidos del oleaje**

Aquellos en las que el oleaje oceánico no penetra con fuerza porque se encuentran localizadas fuera de los cinturones de tormenta. Generalmente son ambientes de olas de baja energía, como los mares cerrados, donde se restringe el desarrollo de la ola. Aparecen en lugares muy abrigados o rodeados de grandes rocas por lo que la acción del viento y de las olas es muy debilitada. Presenta condiciones óptimas para el asentamiento y crecimiento de una amplia variedad de comunidades (Rodríguez, 2018).

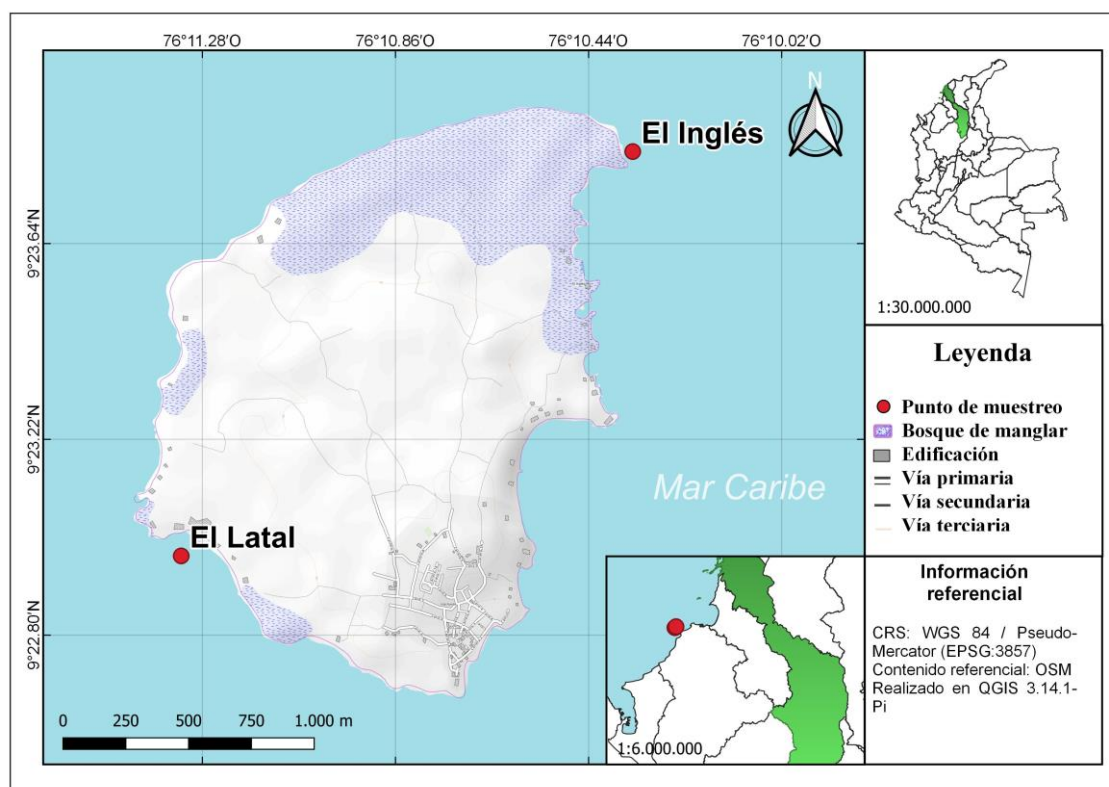
### **3.2.7. Ambientes expuestos al oleaje**

Aquellos con mayor corriente, ambientes energéticos (con fuerte oleaje) donde las olas son más violentas, son generalmente zonas de acantilados, poco protegidas, en las que el mar y el viento baten con fuerza; las olas no encuentran freno a su avance y llegan a alcanzar varios metros de altura (Alve, 1999). Las especies que habitan en estas áreas son aquellas capaces de resistir la agitación del sedimento por acción del oleaje (Fauré-Fremiet, 1950).

## 4. DISEÑO METODOLÓGICO

### 4.1. Área de estudio

El estudio se realizó en Isla Fuerte, ubicada al costado sur de la plataforma continental del Caribe Colombiano, entre 9° 20' 30" a 9° 24' 30" N y 76°10' 00" a 76° 12' 30" W a 11 km de la costa de Paso Nuevo, Córdoba, con una extensión de 3.23 Km<sup>2</sup>., (Anderson, 1975; Castaño y Moncaleano, 2007).



**Figura 1.** Área de estudio y ubicación geográfica de los puntos de muestreo (El latal, El inglés) de Isla Fuerte, Caribe colombiano. Elaborado por Juan Vergara en QGIS 3.14.1

El clima de Isla Fuerte es semi-seco, y corresponde al Ecosistema Bosque Seco Tropical (Bs-T) según las unidades ecosistémicas de Holdrige en 1993 (Anderson, 1975; en Huertas, 2000, Bernal, 2012). La temperatura promedio anual varía entre los 25 - 30 C° y posee precipitaciones promedio mensual que varían entre los 900 y 1400 mm de lluvia, el cual tiene una tendencia unimodal, que para el caso de Isla Fuerte está separado por el veranillo de San Juan



entre junio y julio donde la tendencia de las lluvias cae cerca de 50 mm promedio, convirtiendo la tendencia de las lluvias a bimodal (Correa, 2007).

Para llevar a cabo esta investigación se escogieron dos sectores en la isla teniendo en cuenta la incidencia del oleaje.

- **Sector El inglés:** 09°24'219" N, 76°10'309" W. Área marina expuesta al oleaje. Presenta sustrato rocoso de origen coralino, con grandes rocas, sustrato arenoso, coberturas de pastos, cercanía a un bosque de manglar y fuerte oleaje (Sevillano, 2017).
- **Sector El latal:** 09°22'58.202" N, 76°11'19.567" W. Área marina protegida al oleaje. Presenta sustrato rocoso de origen coralino, sustrato arenoso y amplia abundancia de macroalgas; así como pasto marino, cercanía a un bosque de manglar, y oleaje bajo. Lo que origina un gran número de microhábitat para el asentamiento de invertebrados (Sevillano, 2017).

## **4.2 Fase de Campo**

### **4.2.1. Recolección del material biológico**

La recolección de la especie *Hermodice carunculata* se llevó acabo por búsqueda libre y de manera manual. Los individuos provenientes de las rocas coralinas se extrajeron por fragmentación de la roca con ayuda de un cincel o martillo (Molina y Londoño, 2015). Aquellos asociados a corales o algas se empleó la metodología descrita por Viéitez, 2004. Los organismos se obtuvieron mediante el uso de pinzas entomológicas, con ayuda de un vernier se midieron en campo y se anotaron las variaciones de coloración que estos presentaban. Para el reconocimiento de la especie en los sectores de estudio se realizó en un muestreo previo, con ayuda del experto Ricardo Dueñas y mediante la utilización de claves taxonómicas se llevó acabo la identificación de la misma, incluso esta especie ha sido identificada en isla fuerte por Botero (2017). Los muestreos se hicieron en los meses de julio y octubre del año

2019, teniendo en cuenta las épocas climáticas. Se obtuvo un total de 60 gr en los dos puntos de muestreo, 30 gr para punta El inglés y 30 gr para el Latal. El material fue fijado en frascos de vidrio con metanol hasta su posterior tratamiento. Estos fueron trasladados en cava al laboratorio de productos naturales de la universidad de Córdoba, Montería, en donde se realizó la actividad antioxidante.

#### **4.2.2. Medición de las variables ambientales**

Para medir la temperatura en los dos sectores de muestreo se utilizó un medidor multiparamétrico. Los datos de precipitación para ambos sectores fueron proporcionados por la estación meteorológica del aeropuerto Rafael Núñez de Cartagena en el año 2019.

### **4.3 Fase de laboratorio**

#### **4.3.1 Obtención del extracto**

Los organismos se cortaron en trozos pequeños y fueron sometidos a 3 extracciones sucesivas con metanol, de esta forma se obtiene el respectivo extracto metanólico. Posteriormente, se filtró y el solvente se eliminó mediante destilación a presión reducida empleando un rotavaporador Heidolph. El extracto metanólico obtenido se utilizó para evaluar la actividad antioxidante.

#### **4.3.2 Determinación de la actividad antioxidante**

Se realizaron ensayos de actividad antioxidante al extracto Metanólico de *Hermodice carunculata* con el método del radical catiónico 2,2-azinobis-(ácido3-etilbenzotiazolona-6-sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>) y el método de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH<sup>•</sup>).

Al realizar los ensayos preliminares al extracto obtenido, se observó inhibiciones representativas a una concentración de 500 ppm para las metodologías ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>. Por lo anterior, se procedió a evaluar

concentraciones de 500 a 5000 ppm. Para calcular la respectiva concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>).

#### **4.3.2.1 Método radical DPPH**

##### **4.3.2.1.2 Preparación solución madre de DPPH:**

Para preparar la solución madre de DPPH•, se tomaron 150 mg DPPH• y se disolvieron en 7ml MeOH, la cual se guardó en la oscuridad por 24 h. Pasado este tiempo se tomaron pequeñas alícuotas de 1 mL que fueron diluidas con MeOH hasta obtener una absorbancia ajustada de  $0.300 \pm 0.05$  a una  $\lambda = 517$  nm en el espectrofotómetro UV/VIS GENESYS 20. El blanco del equipo para hacer las lecturas de absorbancia se ajustó con metano (Guzmán, 2014).

##### **4.3.2.1.3 Preparación de la solución madre del extracto**

Se preparó una solución madre de 10000 ppm a partir de 50 mg del extracto diluidos en 5 ml de DMSO. A partir de estas se prepararon soluciones para cálculos de IC<sub>50</sub>.

##### **4.3.2.1.4 Evaluación de la muestra DPPH**

Para evaluar la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de los organismos marinos se procederá a preparar las siguientes celdas:

**Muestra:** se tomaron 40  $\mu$ L de las diferentes concentraciones y se diluyeron en 1960  $\mu$ L del radical DPPH• previamente preparado. Esto con la finalidad de calcular el IC<sub>50</sub>.

**Blanco de muestra:** se preparó utilizando 40  $\mu$ L de la solución del extracto y 1960  $\mu$ L de metanol.

**Blanco de equipo:** se ajusta el equipo con metanol analítico hasta absorbancia cero.

**Referencia:** se prepara utilizando 40  $\mu$ L de metanol y 1960  $\mu$ L de solución de DPPH•.

Luego de que las soluciones fueron preparadas, se incubaron por 30 min en la oscuridad y se leyó su absorbancia en el espectrofotómetro a 517 nm encontrándose el porcentaje de inhibición con la ecuación (1).

$$\% \text{ Inhibición} = \left[ 1 - \left( \frac{A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}}{A_{\text{referencia}}} \right) \right] * 100 \quad (1)$$

A. muestra: Absorbancia de muestra

A. blanco: Absorbancia de blanco

A. referencia: Absorbancia de referencia

#### **4.3.2.2. Método radical ABTS**

##### **4.3.2.2.1 Preparación solución madre de ABTS:**

Este método consiste en formar un radical catiónico ABTS<sup>•+</sup>, mediante una reacción de oxidación con persulfato de potasio. Para preparar la solución madre de radical ABTS<sup>•+</sup>, se tomaron 17.5 mg de ABTS<sup>•+</sup> y se disolvieron en 9.9 ml de H<sub>2</sub>O estéril. Luego 34 mg de persulfato de potasio (S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>K<sub>2</sub>) fueron diluidos en 1ml de H<sub>2</sub>O. De estas soluciones preparadas se tomaron 9.9 ml de solución de ABTS<sup>•+</sup> (3.5mM) y 0.1 ml de solución de persulfato de potasio (1.25 mM), esta nueva solución fue posteriormente guardada en la oscuridad por 12 h. Pasado este tiempo se tomaron pequeñas alícuotas y fueron diluidas con un buffer fosfato de pH 7.4 hasta obtener una absorbancia ajustada de 0.700±0.05 a una λ=734 nm en el espectrofotómetro UV/VIS GENESYS 20, El blanco del equipo para hacer las lecturas de absorbancia se ajustó con buffer fosfato pH 7.4 (Guzmán, 2014).

##### **4.3.2.2.2 Preparación de la solución madre del extracto**

Se preparó una solución madre de 10000 ppm a partir de 50 mg del extracto diluidos en 5 ml de Dimetilsulfóxido (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO o DMSO.

#### 4.3.2.2.3 Evaluación de la muestra ABTS.

**Muestra:** se tomaron 40  $\mu\text{L}$  de las diferentes concentraciones y se diluyeron en 1960  $\mu\text{L}$  del radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  previamente preparado. Esto con la finalidad de calcular el  $\text{IC}_{50}$ .

**Blanco de muestra:** se preparó con 40  $\mu\text{L}$  de muestra y 1960  $\mu\text{L}$  del buffer fosfato con pH 7.4.

**Blanco de Equipo:** consiste en un buffer fosfato con un pH de 7.4 con el que se ajusta el equipo a absorbancia cero.

**Referencia:** se preparó utilizando 40  $\mu\text{L}$  de DMSO y 1960  $\mu\text{L}$  de solución de ABTS.

Luego de que las soluciones fueron preparadas, se incubaron por 30 min en la oscuridad y se realizó lectura de absorbancias en el espectrofotómetro a 732 nm encontrándose el porcentaje de inhibición con la ecuación (1).

Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

La actividad antioxidante de las muestras fue determinada mediante los valores promedios de las absorbancias medidas en los ensayos a cada concentración y se transformaron en valores de % de inhibición (% Inh en función de la concentración). Para determinar la concentración inhibitoria del 50% ( $\text{IC}_{50}$ ), se utilizó la ecuación de la recta la cual se obtiene de la curva de referencia de cada patrón analizado se sustituye (y) por 50 (Brand-Williams *et al.* 1995).

#### 4.4. Análisis de datos

Con los resultados obtenidos se realizaron matrices de datos en la hoja de cálculo Microsoft Excel ® 2016. Para luego llevar a cabo los cálculos estadísticos descriptivos.

Se evaluaron los supuestos de normalidad (prueba de Lillieford) y homocedasticidad (prueba de Levene) para las variables temperatura, precipitación, talla, inhibición e IC50.

Para determinar la asociación de la actividad antioxidante de *Hermodice carunculata* con respecto a la talla se realizó un histograma con intervalos modificados de Sturges y para coloración se usaron gráficos de barra.

Se elaboró el Análisis de componentes principales (ACP) en el programa R versión 4.0.2 2020 para observar el comportamiento de los datos.

Se efectuó la prueba U de Mann Whitney para establecer las diferencias significativas entre las variables del estudio.

Se determinó mediante la prueba de Fisher la dependencia o asociación entre las variables.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Ensayo de decoloración del radical 1-1-Difenil-2-Picrilhidrazilo (DPPH•) y 2,2-azinobis-(ácido3-etilbenzotiazolona-6-sulfónico) (ABTS•+).

La actividad antioxidante de decoloración del radical DPPH• y ABTS•+ se determinó de acuerdo a los parámetros establecidos en el numeral 4.3.2

#### 5.1.1 Preparación de la curva de referencia

A continuación, se reportan en la tabla 1 y 2 los datos correspondientes a la inhibición para el extracto metanólico del gusano de fuego *H. carunculata* de ambiente protegido y expuesto al oleaje, implementando el método DPPH• y ABTS•+.

**Tabla 1.** Porcentajes de inhibición del radical DPPH• empleado en los extractos obtenidos de la especie *Hermodice carunculata* de ambiente protegido y expuesto al oleaje, en época seca y lluviosa.

Extracto <i>Hermodice carunculata</i>				
Ambiente protegido		Ambiente expuesto		
Concentración (ppm)	Época seca	Época lluviosa	Época seca	Época lluviosa
	%Inhibición		%Inhibición	
500	14,6	11,75	13,4	15,97
1000	24,4	20,81	29,2	24,51
1500	27,11	27,23	42,6	30,76
2000	28,8	36,24	34,2	39,63
2500	30,5	41,82	49,6	43,11
3000	34,2	44,96	57,3	47,67
3500	41,02	52,11		54,29
4000	45,6	59,73		56,24
500	52,6			

**Tabla 2.** Porcentaje de inhibición del radical ABTS<sup>+</sup>• empleado en los extractos obtenidos de la especie *Hermodice carunculata* de ambiente protegido y expuesto al oleaje, en época seca y lluviosa.

Extracto <i>Hermodice carunculata</i>				
	Ambiente protegido		Ambiente expuesto	
	Época seca	Época lluviosa	Época seca	Época lluviosa
Concentración (ppm)	%Inhibición		%Inhibición	
500	9,2	11,7	17,5	22,17
1000	23,3	39,9	31,12	44,2
1500	36,74	47,1	33,9	58,3
2000	41,83	60,4	56,09	73,4
2500	55,01	63,5	62,23	80,6

La inhibición de los extractos de *Hermodice carunculata* del sector inglés presento un promedio de  $36.2 \pm 15.3\%$  y para el latinal un promedio de  $42.4 \pm 17.8\%$ . La prueba U de Mann Whitney no arrojo diferencias significativas entre los dos sectores ( $p\text{-valor}=0.21$ ;  $\alpha=0.05$ ).

Para los extractos obtenidos en época seca, la inhibición presento un promedio de  $36.4 \pm 14.8\%$  y para época lluviosa un promedio de  $41.9 \pm 18.3\%$ . Estos valores no difieren significativamente (U. Mann Whitney,  $p\text{-valor}=0,29$ ).

La inhibición por el método DPPH presento un promedio de  $36.3 \pm 13.5\%$  y por el método ABTS  $43.4 \pm 20.3\%$ , de acuerdo a la prueba U de Mann Whitney no hay diferencias relevantes en la inhibición de los extractos por ambos métodos ( $p\text{-valor}=1$ ;  $\alpha=0.05$ ) y de igual manera en la prueba de Fisher no se observó dependencia entre el porcentaje de inhibición con el método y las épocas climáticas ( $p\text{-valor}=1$ ;  $\alpha=0.05$ )



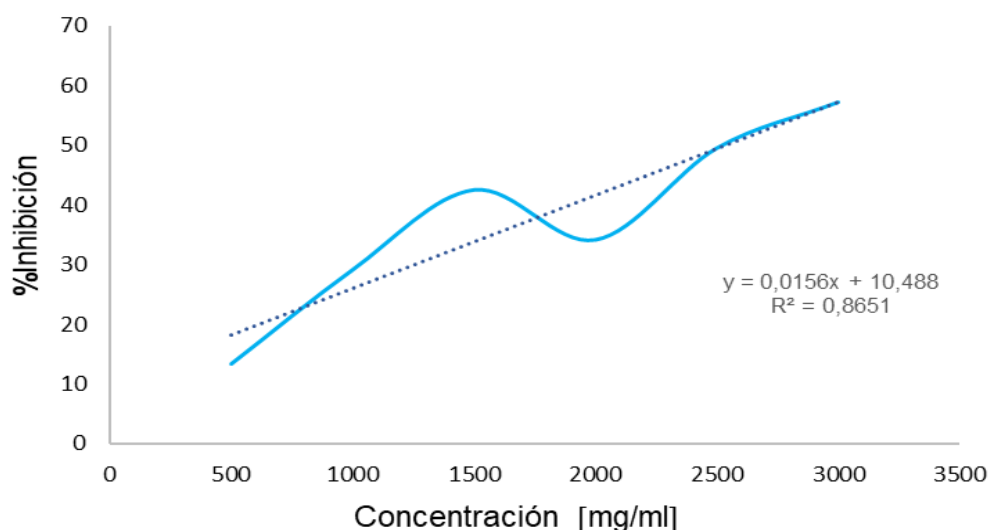
### 5.1.1.2 Concentración inhibitoria media (IC50)

siguiendo los datos de la tabla 1 y 2, se realizó la curva de referencia que permite verificar la dependencia lineal del porcentaje de inhibición del radical vs la concentración del extracto en miligramos por mililitro de metanol.

#### 5.1.1.2.1 Determinación del IC50 para el radical DPPH•

Según la figura 2 la curva de referencia del extracto metanólico de ambiente expuesto en época seca da una ecuación:  $y = 0,0156(x) + 10,488$  y un  $R^2 = 0,8651$ . El resultado obtenido para el IC50 es de 2533 mg/ml.

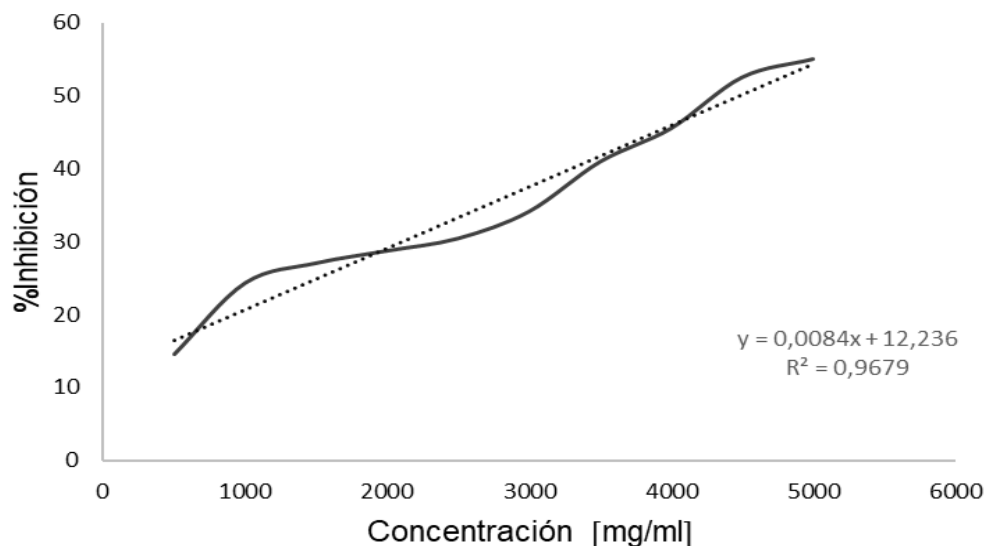
Los valores muy altos de  $R^2$  indica una relación fuerte positiva entre la concentración y la actividad inhibitoria del radical.



**Figura 2.** Curva de referencia del porcentaje de inhibición de DPPH• v/s concentración del extracto metanólico de *Hermodice carunculata* de ambiente expuesto al oleaje en época seca.

Teniendo en cuenta el ajuste de la curva tiene un valor de  $R^2 = 0,8651$ , se puede explicar un 86.51% de la variabilidad de la absorbancia respecto a las concentraciones evaluadas. Por otro lado, el valor de la pendiente indica que el porcentaje de inhibición se afecta 0.0156 unidades por cada unidad de concentración.

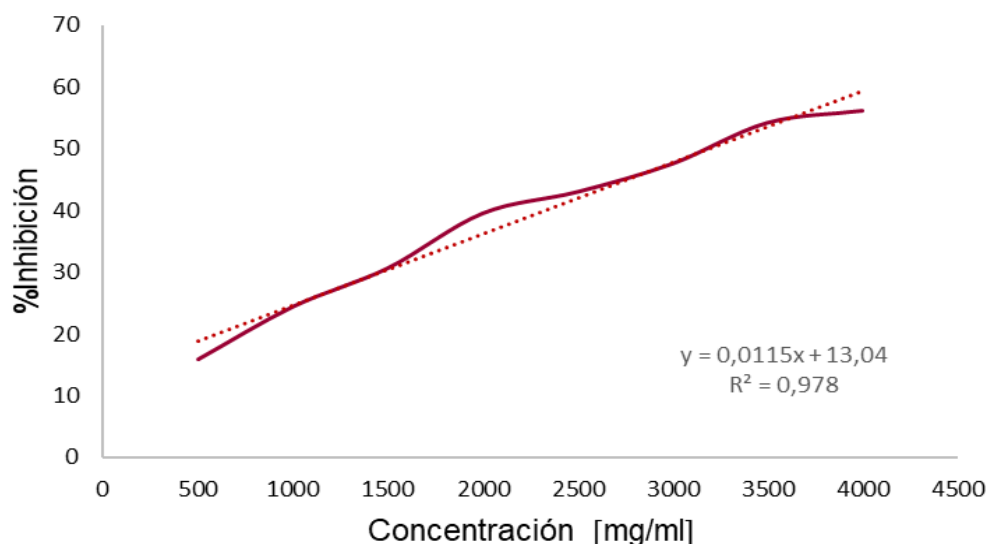
Según la figura 3 la curva de referencia del extracto metanólico de ambiente protegido en época seca da una ecuación:  $y = 0,0084(x) + 12,236$  y un  $R^2 = 0,9679$ . El resultado obtenido para el IC50 es de 4496 mg/ml.



**Figura 3.** Curva de referencia del porcentaje de inhibición de DPPH• v/s concentración del extracto metanólico de *Hermodice carunculata* de ambiente protegido del oleaje en época seca.

con un  $R^2$  de 0.9679 tomado del ajuste de la curva, se puede expresar la variabilidad de la absorbancia con un 96.79% en relación a las concentraciones estimadas. Por otra parte, el valor de la pendiente señala que el porcentaje de inhibición se afecta 0.0084 unidades por cada unidad de concentración de los extractos evaluados.

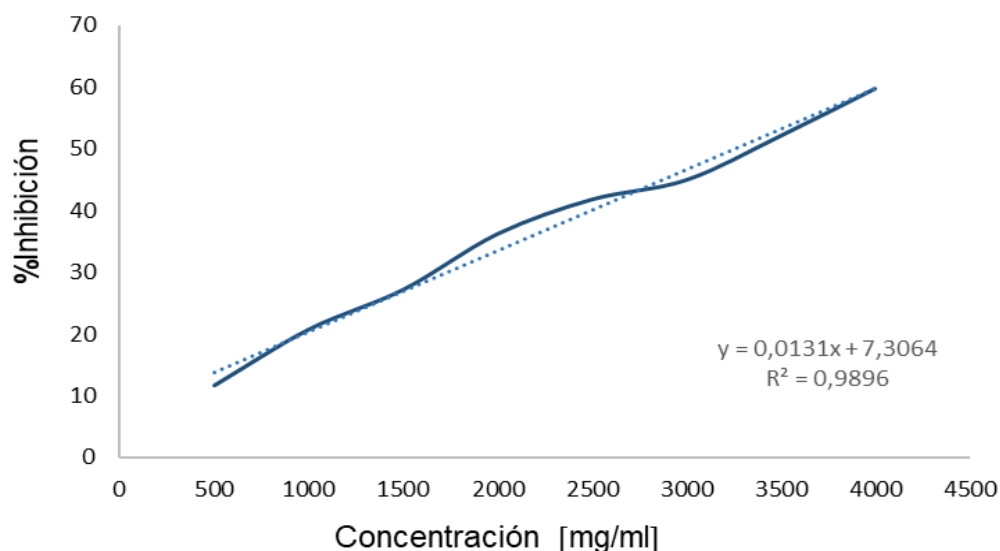
Según la figura 4 la curva de referencia del extracto metanólico de ambiente expuesto en época lluviosa da una ecuación:  $y = 0,0115(x) + 13,04$  y un  $R^2 = 0,9679$ . El resultado obtenido para el IC50 es de 3213.91 mg/ml.



**Figura 4.** Curva de referencia del porcentaje de inhibición de DPPH• v/s concentración del extracto metanólico de *Hermodice carunculata* de ambiente expuesto al oleaje en época lluviosa.

Partiendo que el valor del ajuste de la curva es 0.978, se logra interpretar un 97.8% la variación de la absorbancia con relación a la concentración considerada. Por otro lado, el valor de la pendiente explica que el porcentaje de inhibición se ve afectado por 0.0115 unidades por cada unidad de concentración.

Según la figura 5 la curva de referencia del extracto metanólico de ambiente protegido en época lluviosa da una ecuación:  $y = 0,0131(x) + 7,3064$  y un  $R^2 = 0,9896$  El resultado obtenido para el IC50 es de 3258,09 mg/ml.

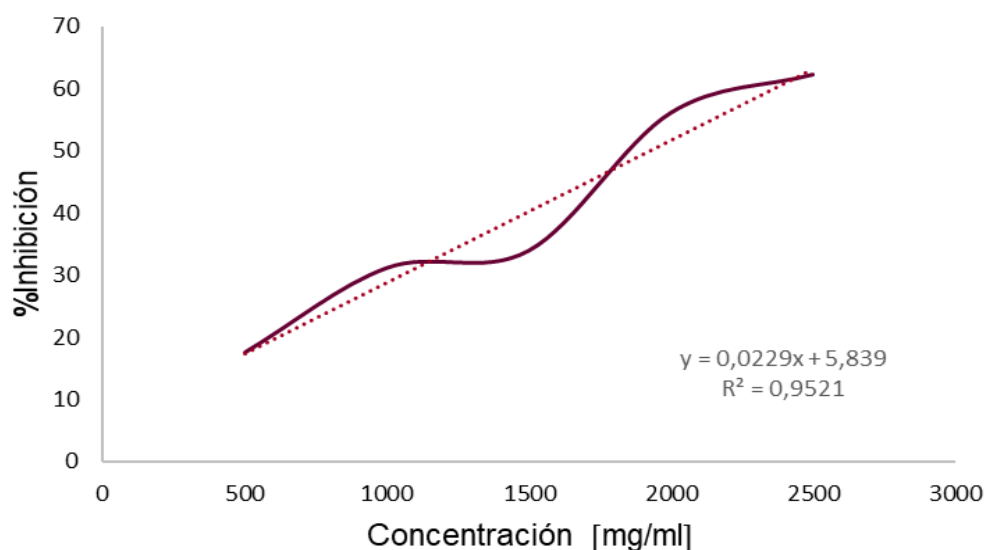


**Figura 5.** Curva de referencia del porcentaje de inhibición de DPPH• v/s concentración del extracto metanólico de *Hermodice carunculata* de ambiente protegido del oleaje en época lluviosa.

Tiendo presente el valor del ajuste de la curva de 0,978, se infiere con un 97,8% la variabilidad de la absorbancia en relación con la concentración estimada. De la misma forma, el valor de la pendiente indica que el porcentaje de inhibición se ve afectado por 0.0115 unidades por cada unidad de concentración.

#### 5.1.1.2.2 Determinación del IC50 para el radical ABTS+•

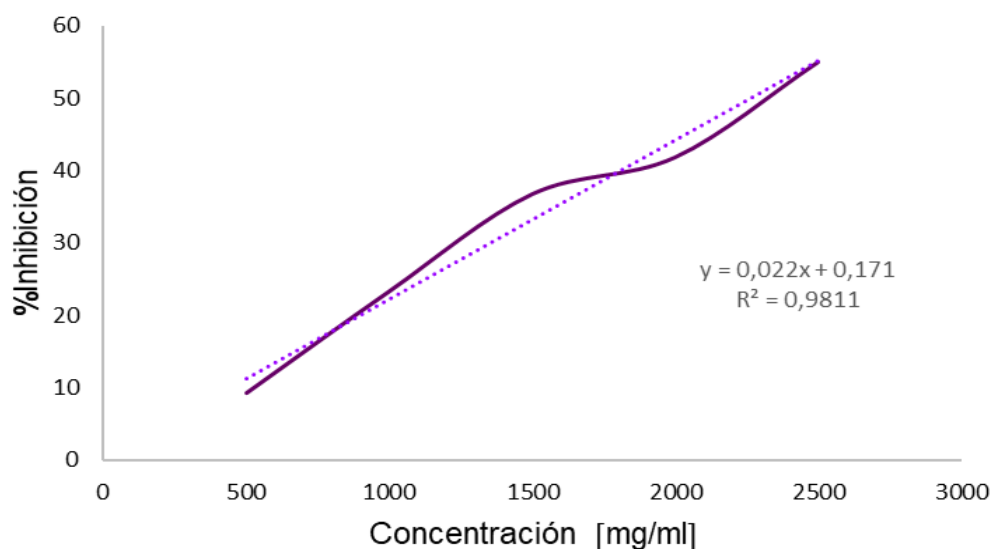
Según la figura 6 la curva de referencia del extracto metanólico de ambiente expuesto en época seca da una ecuación:  $y = 0,0229(x) + 5,839$  y un  $R^2 = 0,9521$ . El resultado obtenido para el IC50 es de 1928,42 mg/ml.



**Figura 6.** Curva de referencia del porcentaje de inhibición de ABTS+• v/s concentración del extracto metanólico de *Hermodice carunculata* de ambiente expuesto al oleaje en época seca.

El  $R^2$  obtenido del ajuste de la curva es 0,9679 por lo que la variabilidad en la absorbancia se puede considerar como con 96,79% en relación con la concentración valorada. De igual importancia, el valor de la pendiente muestra que el porcentaje de inhibición se ve afectado por 0.0084 unidades por cada unidad de concentración del extracto.

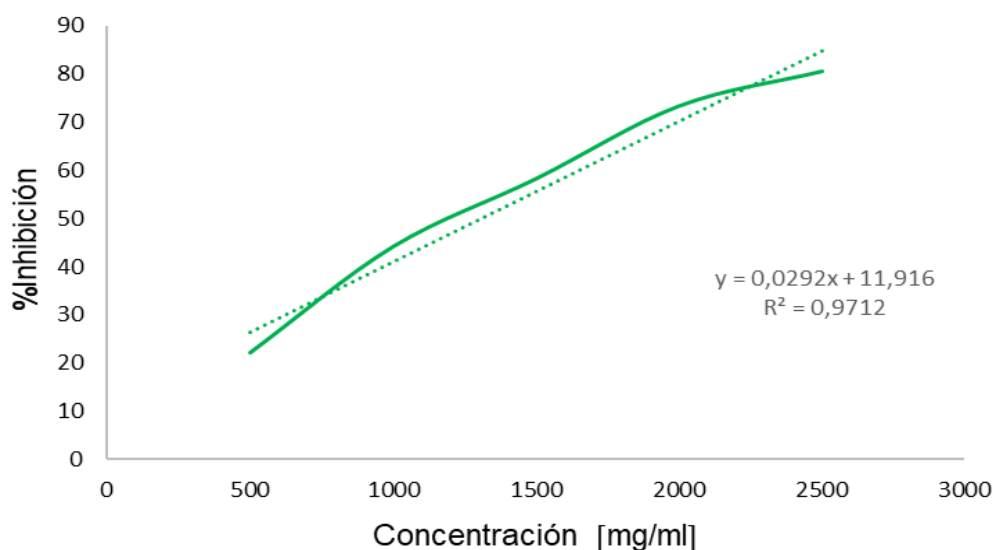
Según la figura 7 la curva de referencia del extracto metanólico de ambiente protegido en época seca da una ecuación:  $y = 0,022(x) + 0,171$  y un  $R^2 = 0,9811$  El resultado obtenido para el IC50 es de 1928,42 mg/ml.



**Figura 7.** Curva de referencia del porcentaje de inhibición de ABTS+• v/s concentración del extracto metanólico de *Hermodice carunculata* de ambiente protegido del oleaje en época seca.

La variabilidad de la absorbancia respecto a las concentraciones evaluadas se puede explicar con 98.11% tomando en cuenta el ajuste de la curva que tiene un valor de  $R^2 = 0.9811$ . De igual manera, el valor de la pendiente indica que el porcentaje de inhibición se afecta 0.022 unidades por cada unidad de concentración.

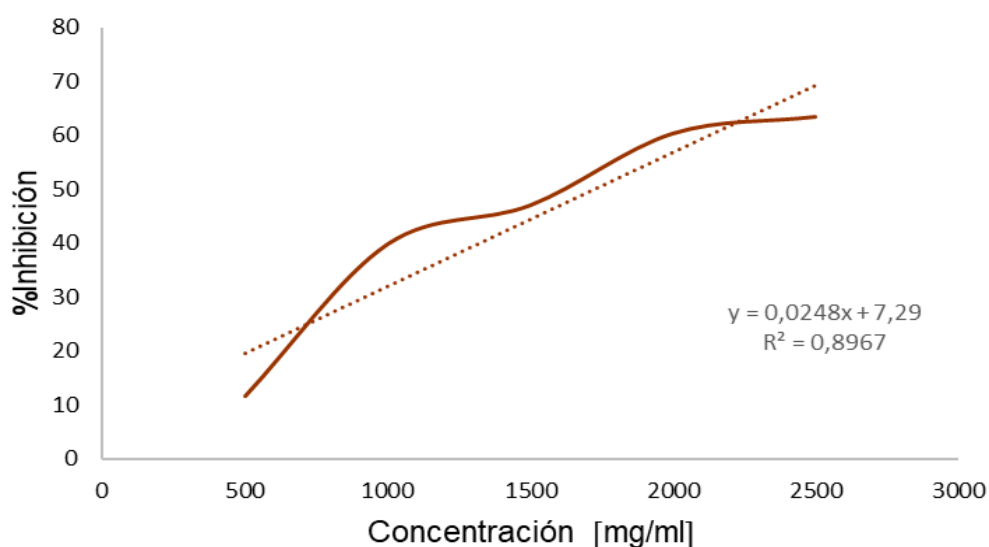
Según la figura 8 la curva de referencia del extracto metanólico de ambiente expuesto en época lluviosa da una ecuación:  $y = 0,0292(x) + 11,916$  y un  $R^2 = 0,9712$  El resultado obtenido para el IC50 es de 1304,25 mg/ml.



**Figura 8.** Curva de referencia del porcentaje de inhibición de ABTS+• v/s concentración del extracto metanólico de *Hermodice carunculata* de ambiente expuesto al oleaje en época lluviosa.

Se puede considerar que el valor del ajuste de la curva 0.9712, demuestra con un 97.12% la variabilidad de la absorbancia en referencia a las concentraciones examinadas. De manera similar, el valor de la pendiente indica que el porcentaje de inhibición se afecta 0.0292 unidades por cada unidad de concentración.

Según la figura 9 la curva de referencia del extracto metanólico de ambiente protegido en época lluviosa da una ecuación:  $y = 0,0248(x) + 7,29$  y un  $R^2 = 0,8967$  El resultado obtenido para el IC50 es de 1722,2 mg/ml.



**Figura 9.** Curva de referencia del porcentaje de inhibición de ABTS+• v/s concentración del extracto metanólico de *Hermodice carunculata* de ambiente protegido del oleaje en época lluviosa.

A partir del  $R^2 = 0.8967$ , se puede demostrar el 89.67% de la variabilidad de la absorbancia respecto a las concentraciones evaluadas. Además, el valor de la pendiente revela que el porcentaje de inhibición se afecta 0.0248 unidades por cada unidad de concentración.



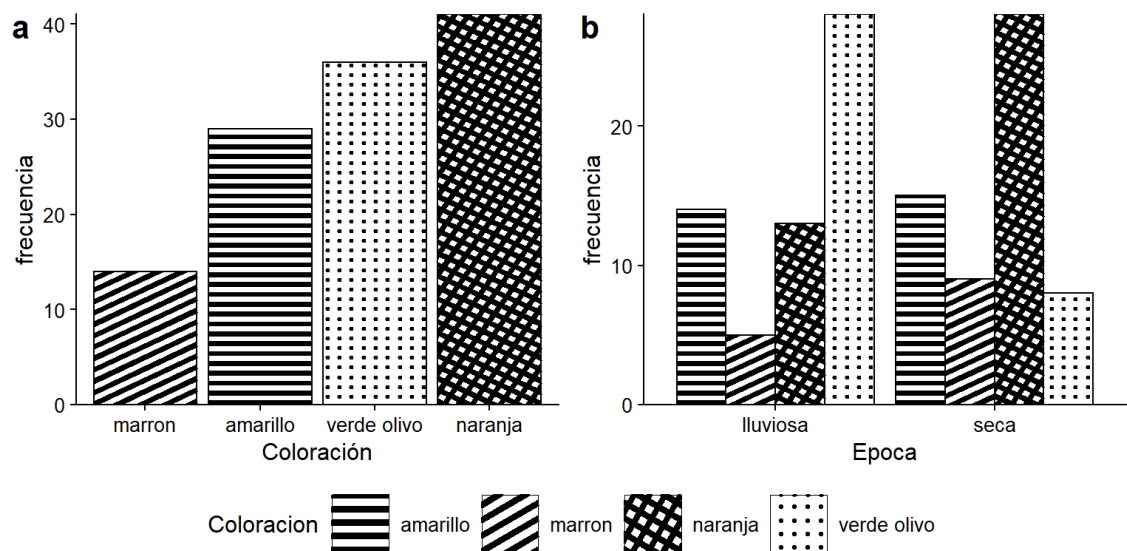
**Tabla 3.** concentración inhibitoria media (IC50) para el radical DPPH• y ABTS• de los extractos de ambiente protegido y expuesto al olaje en época seca y lluviosa.

(IC50) de los extractos metanolicos primarios de <i>Hermodice carunculata</i>				
	Latal (Ambiente protegido)		Inglés (Ambiente expuesto)	
	Época seca	Época lluviosa	Época seca	Época lluviosa
<b>DPPH</b>	4496 mg/ml	3259,05 mg/ml	2533 mg/ml	3213,91 mg/ml
<b>ABTS</b>	2264,9 mg/ml	1928,42 mg/ ml	1304,25 mg/ml	1722,2 mg/ml

Con un p-valor de 0.0025, la prueba de Mann Whitney muestra que hay diferencias significativas entre los IC50 de las muestras del sector El inglés con respecto a las del Latal. La actividad antioxidante de los extractos frente a los radicales utilizados no es buena, es decir, que no presenta poder antioxidante, pero al encontrar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los factores de muestreo (IC50), se infiere que hay variaciones entre biosíntesis de compuestos en esos factores, lo cual podría ser un avance al mostrar cuales serían las mejores condiciones para colectar especies con metabolitos activos. Por otra parte, no se observó influencia de las épocas climáticas sobre el valor del IC50 (U. Mann Whitney, p-valor= 0.10).

## 5.2 Variables de estudio

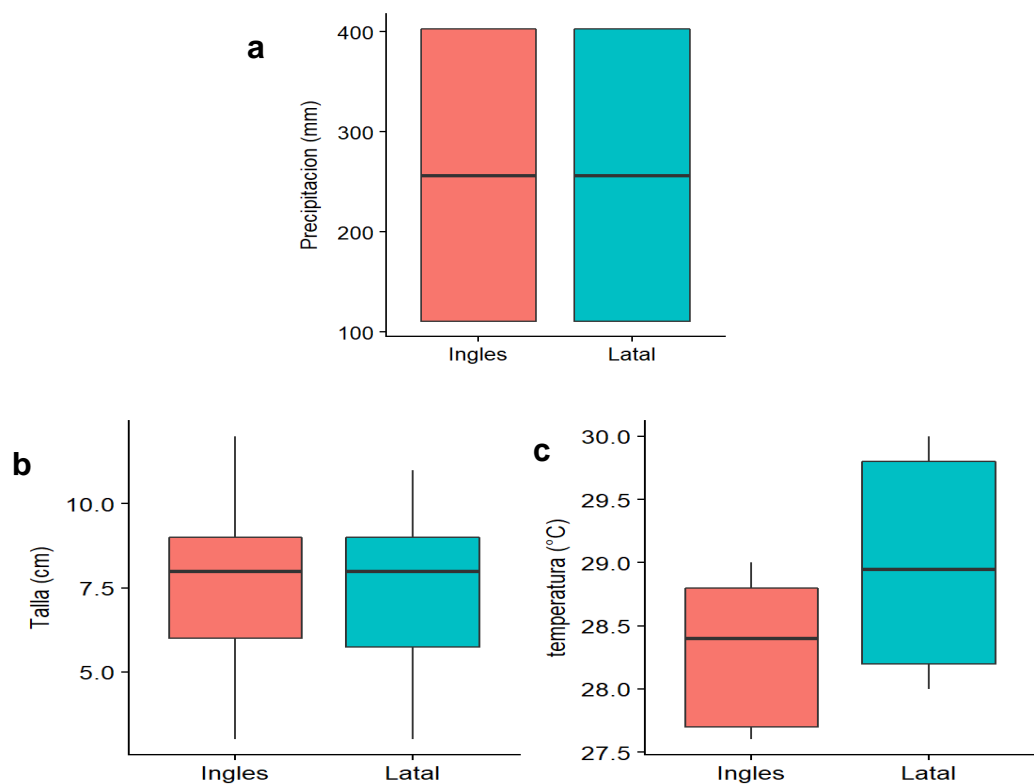
Se registró un total de 120 individuos, durante los dos meses de estudio. En época seca, se recolectaron 30 organismos en el sector el latal (protegido del oleaje) y también en El inglés (expuesto al oleaje), inclusive en época lluviosa, para ambos sectores se recolectaron la misma cantidad. Estos mostraron diferentes tipos de coloración, tales como naranja, verde olivo, amarillo y marrón. Presentándose en su mayoría el color naranja con 41 individuos y en menor cantidad el color marrón con 14 individuos. En la prueba de Fisher se observó dependencia entre la coloración con la época climática ( $p\text{-valor}=0.0003$ ;  $\alpha=0.05$ ), los individuos de color naranja se encontraron más en época seca y los de color verde olivo en época lluviosa, por otro lado, no se presentó asociación entre la coloración con el sustrato ( $p\text{-valor}=0,35$ ;  $\alpha=0.05$ ) y la coloración con el sector ( $p\text{-valor}= 0,55$ ;  $\alpha=0.05$ ) (figura 9).



**Figura 10.** Coloración de los individuos. **A.** Mayor y menor coloración **B.** Asociación entre la coloración con las épocas climáticas.

### 5.2.1 Análisis por sector

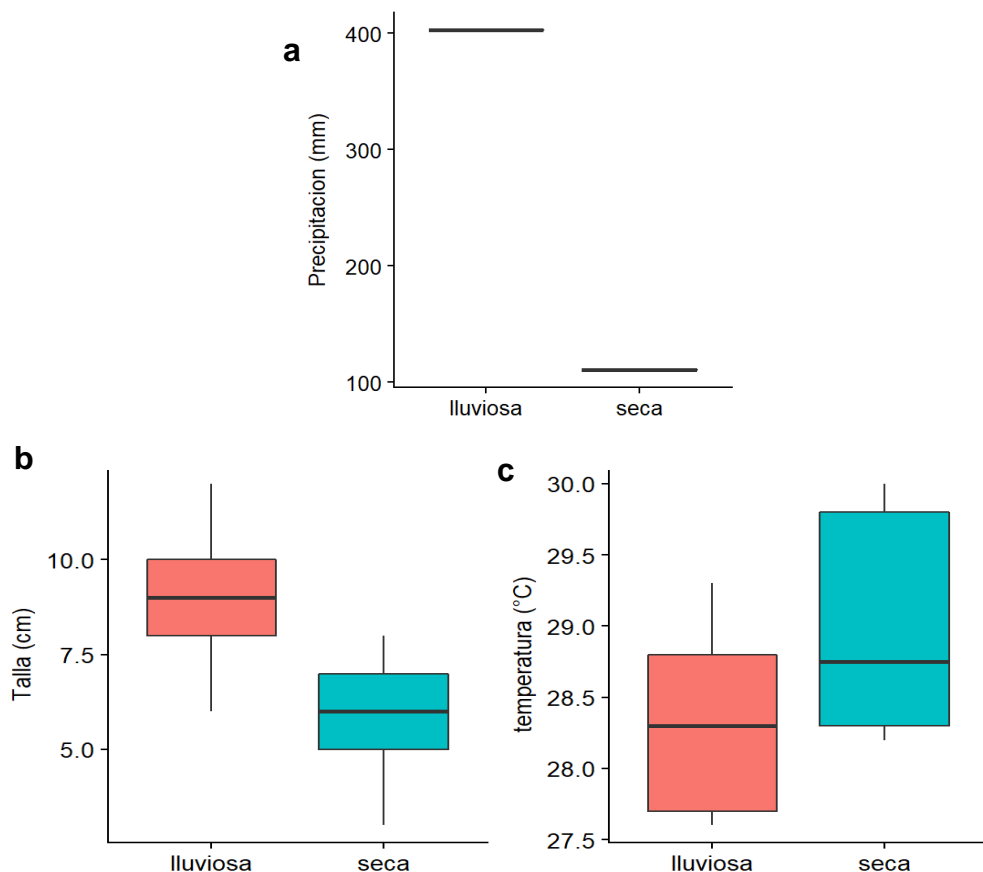
La precipitación en El latal (ambiente protegido del oleaje) y El inglés (ambiente expuesto al oleaje) arrojó un promedio de  $256.6 \pm 147.3$  mm para ambos sectores. Se registraron diferencias estadísticamente significativas entre la media de los datos tomados (Mann Whitney,  $p\text{-valor}=1$ ). Por otro lado, con un promedio de  $28.3 \pm 0.52$  °C en El inglés y  $28.9 \pm 0.7$  °C en El latal, la prueba de Mann Whitney mostró discrepancias entre la temperatura de los dos sectores muestreados ( $p\text{-valor}=2.545e-05$ ;  $\alpha=0.05$ ). En cuanto a la talla de los individuos, se obtuvo un promedio de  $7.4 \pm 2.1$  cm para El inglés, y  $7.2 \pm 2.1$  cm para El latal. De lo cual no se halló desigualdad entre los valores (Mann Whitney,  $p\text{-valor}=0.72$ ) (fig.10). registró



**Figura 11.** Promedio y desviación de las variables por sector. **A.** Precipitación. **B.** Temperatura. **C.** Talla.

### 5.2.2 Análisis por época

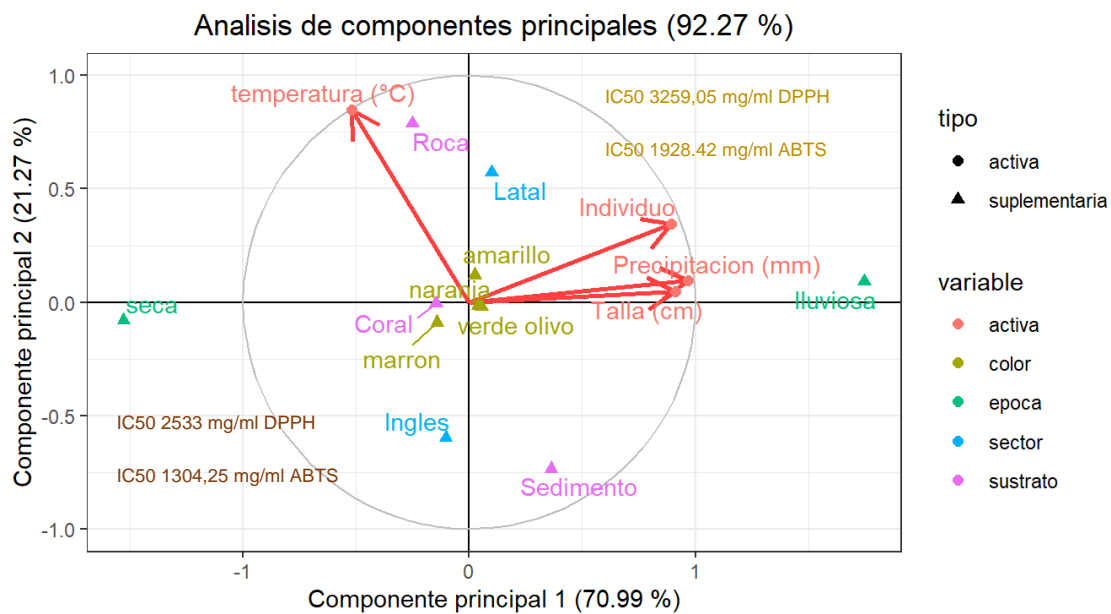
La variable precipitación en época seca tuvo un promedio de  $110.5 \pm 0.0$  mm y en época lluviosa  $402.8 \pm 0.0$  mm, la prueba de Mann Whitney mostró diferencias significativas entre estos valores ( $p\text{-valor} = 2.2e-16$ ), asimismo la temperatura en época seca presentó un promedio de  $28.9 \pm 0.7^\circ\text{C}$  y en época lluviosa  $28.3 \pm 0.6^\circ\text{C}$ , en lo cual difieren significativamente (Mann Whitney,  $p\text{-valor} = 2.545e-05$ ). Con respecto a la talla de los organismos, en época seca se obtuvo un promedio de  $5.7 \pm 1.5$  cm y en época lluviosa  $8.9 \pm 1.2$  cm, reportando diferencias significativas (Mann Whitney,  $p\text{-valor} = 2.2e-16$ ) esto último señala que el tamaño de los organismos puede variar según la época climática, es por ello que se encontraran individuos de mayor talla en época lluviosa que en época seca (fig. 11).



**Figura 12.** Promedio y desviación de las variables por época. **A.** Precipitación. **B.** Temperatura. **C.** Talla.

### 5.3. Análisis de componentes principales (ACP)

El primer componente del análisis multivariante (ACP), muestra el comportamiento de las variables medidas en campo: temperatura, precipitación, talla y coloración de los individuos con un 21,27% de la varianza acumulada. El segundo componente representa los sectores de muestreo, época climática y el sustrato sobre el cual se recolectaron los organismos con un 70.99%, resultando un 92.26% de la variabilidad total del sistema, siendo este valor significativo para describir la naturaleza de los datos. El primer eje del PCA representa la influencia de la precipitación sobre el tamaño y coloración de los organismos, haciendo alusión a que, en época de altas precipitaciones, en el sector el latal se encontraran ejemplares de gran tamaño y de color amarillo con mayor frecuencia, con un IC50 de 3259,05 mg/ml para DPPH y un IC50 de 1928.42 mg/ml para ABTS. El segundo eje señala la incidencia de la temperatura sobre la coloración y el sustrato de preferencia de los especímenes. A niveles bajos de temperatura, se asociarán al sedimento y en su mayoría serán de color verde olivo. El tercer eje indica nuevamente el efecto de la precipitación sobre la coloración y el tamaño de los individuos, de manera que, en época de menor precipitaciones, en el sector El inglés, se hallaran especies de talla reducida, ubicados en sustrato coralino y usualmente de color marrón, con un IC50 de 2533 mg/ml para DPPH y un IC50 de 1304,25 mg/ml para ABTS. El cuarto eje presenta también la influencia de la temperatura sobre el color de los organismos y el sustrato donde habitan. A temperatura alta se observarán frecuentemente individuos de tonalidad naranja y localizados en sustrato rocoso.



**Figura 13.** Análisis multivariante (ACP) teniendo en cuenta las variables de estudio.

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1 Actividad antioxidante

Hoy es una realidad que los organismos marinos son extremadamente ricos y estructuralmente diversos en metabolitos secundarios (Carballo, 2002). La frecuente aparición de compuestos bioactivos en estos animales se interpreta, en algunos casos, como un sistema de defensa química frente a factores externos causantes de estrés como la exposición al oleaje, predación, el exceso de recubrimiento por organismos adherentes, o la fuerte competencia por el espacio (Pawlik, 1993 y Proksch, 1994). En relación a las sustancias químicas, los organismos marinos presentan compuestos a los que se le atribuye potencial antioxidante debido a la presencia de familias de metabolitos secundarios, sin embargo, hay otros a los cuales no se les confiere dicha actividad (Laborda, 2002). Es por ello que, de acuerdo con Córdova (2018), al existir una relación inversamente proporcional, a mayor valor de IC<sub>50</sub> menor actividad antirradical, se considera alto potencial antioxidante aquellos con valores menores a 30 µg/mL, con moderado potencial ubicados en un rango entre 30 µg/mL y 100 µg/mL y de bajo potencial antioxidante aquellos con un IC<sub>50</sub> por encima de 100 µg/mL, estos datos han sido registrados en el estudio de magro algas y otros organismos marinos. Si bien es cierto que no se ha explorado la presencia de metabolitos secundarios con actividad biológica en la especie *Hermodice carunculata*, esta ha sido comprobada en otros organismos marinos, como lo reporta Pastrana *et al.* (2016) quienes determinaron la actividad antioxidante del pepino de mar *Isostichopus badionotus*, el cual presentó baja actividad con un IC<sub>50</sub> mayor a los 100 µg/ml. Del mismo modo estos autores en el año 2019 realizaron ensayos de actividad antioxidante con la esponja marina *Lotrochota birotulata*, mostrando que el extracto metanólico para DPPH presentó IC<sub>50</sub> de 139.8 µg/ml, el clorofórmico y acuoso valores superiores a 200 µg/ml, a su vez, el método ABTS arrojó IC<sub>50</sub> con valores entre los 30 µg/ml y los 100 µg/ml para lo cual se concluyó modera actividad antioxidante. Estos criterios de selección señalan que el extracto, no dispone

de metabolitos con potencial antioxidante o si los posee están en cantidades mínimas, ya que los extractos metanolicos primarios de la especie *H. carunculata* presentaron IC50 por encima de las 100 ppm (tabla 5) con muy altas concentraciones. A pesar de ello, se puede afirmar que *H. carunculata* revela la posible existencia de productos naturales con otra funcionalidad, considerando su naturaleza toxica la cual utilizan como mecanismo de depredación o sistema de defensa eficaz. Es así como ellos logran que la mayoría de los predadores potenciales procuren evitarlos y permanecer en su hábitat (Haddad, 2015).

## **6.2 Actividad antioxidante de ambiente protegido y expuesto al oleaje.**

Un aspecto muy importante que hay que considerar, es la relación de los organismos marino con su entorno. El ambiente en el cual se desarrollan las comunidades marinas juega un papel fundamental en la formación de sustancias con actividad biológica (Lara-Lara, 2008; Cárdenas 2003; Valares, 2011). Estudios sugieren que hay una gran fuente de variación incluso dentro de un mismo individuo, como lo reporta Pereira y Vasconcelos (2014), quienes evaluaron la presencia de metabolitos secundarios en el alga roja *Plocamium brasiliense*, exhibió compuestos que varían considerablemente, incluso entre individuos de diferentes localidades, particularidad que se asemeja con los extractos obtenidos de la especie *H. carunculata* puesto que la concentración inhibitoria (IC50) no fueron similares en los diferentes ambientes de muestreo, se observó que los de ambiente expuesto mostraban bajos niveles en comparación con los de ambiente protegido (Tabla 3), permitiendo considerar la existencia de diferentes sustancias químicas en la especie, lo que sugiere la presencia de metabolitos de gran importancia en los extractos de ambiente expuesto, esto se debe posiblemente por la dinámica del sector que influye en ellos, debido a las duras condiciones del ambiente que dominan por la acción directa del oleaje que, en conjunto con la desecación, el nivel de nutrientes, entre otros, afectan las características morfológicas y las tasas fisiológicas de



las comunidades. Como lo muestra Sandoval (2017) en su estudio, en el que examino el efecto de la exposición del oleaje sobre la riqueza de especies de macroalgas y determinó diferencias en morfología de talos de *Sargassum spp.* entre sitios expuestos y protegidos al oleaje. De igual forma González (2013) evidencio una reducción significativa tanto en la supervivencia como en los parámetros poblacionales del alga *Egregia menziesii* en la época de oleaje de invierno en la Bahía de Todos Santos. En ese mismo contexto, las comunidades adaptadas al ambiente de fuerte oleaje muestran cambios estructurales necesarios para desarrollarse y sobrevivir en un medio muy competitivo en lo que respecta a recursos y nutrientes, por lo que han tenido que desarrollar mecanismos bioquímicos y fisiológicos para múltiples propósitos, tales como protegerse de enfermedades virales, hongos patógenos y depredadores o para otras funciones como la reproducción, la comunicación y la competencia por el espacio (Carballo, 2002). Por otro lado, en el ambiente protegido, donde el oleaje es limitado y sin muchas alteraciones por factores abióticos, la comunidad es mayor, estable y más compleja, siendo los factores biológicos los que tienen mayor peso en el control de la comunidad bentónica (Lastra *et al.*, 2006) por lo cual los extractos de ambiente protegido en comparación con los de ambiente expuesto, obedecen a una baja actividad por la poca presión que el medio ejerce.

Debido la topografía de la isla, El inglés (ambiente expuesto) es propenso a recibir mayor intensidad del oleaje y reflejar disminución en la temperatura del agua por acción directa de los vientos alisios. Efecto contrario en zonas de baja energía de oleaje como el ambiente protegido (Latal) donde la temperatura del agua es mayor y, por lo tanto, influye de manera decisiva en los procesos fisiológicos de las especies, generando efectos antagónicos en su propio funcionamiento, como es el caso del metabolismo, la reproducción, entre otros (Garzón-Ferreira, 2003; Franco, 2005). Situación que se ve reflejada en los altos valores de IC50 de los extractos metanolicos, de ambiente calmo. Simultáneamente los resultados de IC50, variaron según los periodos climáticos evaluados, teniendo relación con la tasa de precipitación en la época de lluvias, que genera fuertes reducciones en la salinidad y a su vez causan la

suspensión de material del fondo, lo que perjudica a los organismos, experimentado altas mortalidades y ocasionando fluctuaciones en las poblaciones y en la preferencia por el sustrato (Merchán, 2010). Estos factores toman un rol esencial en la síntesis de los compuestos naturales mostrando variaciones en las sustancias activas de los organismos.

### **6.3 Actividad antioxidante de *Hermodice carunculata* asociada a talla y coloración.**

Los ejemplares de *H. carunculata* capturados presentaron un modelo cromático similar al descrito por Yáñez (2009) y Liñero-Arana (2010). La coloración en estos individuos es un mecanismo de defensa pasivo conocido como aposematismo, esta estrategia evita la depredación sobre especies de organismos marinos, el depredador tras su primer ataque relacionará el patrón de colores con su toxicidad (Herrero, 2015). Esta propiedad toxica también puede ser adquirida y capturada a través de los componentes tóxicos en la alimentación, derivando en la acumulación de estos en su cuerpo y utilizándolos cuando sean necesarios (Gimenez, 1997; Aguado, 2000). Aun así, ha sido difícil establecer a que se deben las variaciones de color en los gusanos de fuego, a pesar de que varios autores la registran (Ibarzábal, 1989; Treadwell 1990), e incluso se tomó como atributo para separar especies (Schmarda, 1961). Ehlers (1987) consideró que probablemente las diferentes coloraciones se encuentran asociadas con la edad del organismo, no obstante, mediante los datos obtenidos se puede inferir que la coloración puede estar sujeta a la presencia de metabolitos secundarios activos. El ACP señala que los organismos de color amarillo y de mayor talla, muestran menor actividad en comparación con aquellos de tonalidad marrón y de talla reducida. Estas diferencias indican que la actividad biológica de la especie está más inclinada aquellos organismos pequeños y de color más opaco. En relación a lo anterior, es posible que los ejemplares de menor tamaño al ser más vulnerables, busquen la manera de estar mayormente protegidos, desarrollando más

sustancias que el resto y así luchar por su permanencia en el ecosistema (Torres-González y García-Guzmán, 2014).

Por otra parte, se conoce que el tamaño y la coloración en la familia Amphinomidae puede estar asociado a la maduración sexual, Kudenov (1995) encontró que los machos adultos presentaban coloraciones blanquecinas a diferencia de las hembras maduras, con oocitos, caracterizadas por una coloración rosa rojiza.

Por otra parte los patrones cromáticos más intensos, en este caso el color marrón, están vinculados con una mayor concentración de toxinas en el organismo y estas se destacan aún más como alerta ante numerosos ataques (Cuy, 2007), aspecto que toma relación con el estudio de Ávila (1993) en el que se discute el papel que cumplen las sustancias naturales en la defensa de los moluscos opisthobranchios, por la existencia de coloraciones aposemáticas en las especies *Hypselodoris webbi*, *H. cantabrica* e *H. Villafranca*, de tal forma que se comprobó por medio de experimentación, que el fuerte color azul en estos organismos se debe a un pigmento no específico. Al parecer las variaciones inter e intraespecífica en la composición del veneno de *H. carunculata* es el resultado de diversos factores como el sexo, la ontogenia, la dieta, la geografía y localidad.

## 7. CONCLUSIONES

Se demostró que los extractos metanolicos primarios de la especie *Hermodice carunculata* no poseen actividad antioxidante significativa, cuyos valores de IC50 fueron por encima del valor estimado para dicha actividad.

Los extractos metanolicos de ambiente protegido presentaron bajos niveles de IC50 en relación a los de ambiente protegido, lo cual describe claramente la influencia del oleaje en la producción de los compuestos químicos presentes en estos organismos.

Se comprobó que factores como exposición al oleaje, temperatura, precipitación, tamaño y la coloración influye en la síntesis de compuestos activos en la especie *Hermodice carunculata*

## 8. RECOMENDACIONES

Para mejorar los resultados obtenidos es necesario realizar un estudio que abarque las dos temporadas en su totalidad, así como también tener en cuenta más variables fisicoquímicas.

Se hace necesario determinar las familias de metabolitos secundarios presentes en los extractos metanólicos primarios de la especie *Hermodice carunculata*, conocer su actividad biológica y a su vez no solo relacionarlas con la coloración y el tamaño sino también con el sexo y maduración de los individuos.

Incrementar el número de muestreos con el fin de incluir zonas intermedias donde haya moderada acción del oleaje y zonas muy protegidas donde no hay acción directa y comparar la bioactividad entre los diferentes grados de exposición.

Incluir conceptos ecológicos como la alimentación, reproducción y epibiosis, con el objetivo de entender con mayor profundidad la dinámica de la síntesis de compuestos activos en estos organismos marinos.

## 9. BIBLIOGRAFIA

- Aguado Gimenez, F., 2000. Relaciones depredador-presa en organismos marinos: aposematismo en moluscos opistobranquios. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia. 1-191pp. Alve, E. 1999. Colonization of new habitats by benthic foraminifera: a review. *Earth-Science Reviews*, 46(1-4), pp. 167 – 185. ISSN 0012-8252.
- Ames BN., MK Shigenaga., TM Hagen. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*; 90:7915-22.
- Amaral, A.C.Z. y E.F Nonato. 1994. Anelídeos poliquetos da costa brasileira. 5. Psionidae, Chrysopetalidae, Amphinomidae e Euphrosinidae. *Revista Brasileira de Zoologia* 11(2):361-390.
- Anderson, P. 1975. Isla Fuerte. *Colombia Geográfica*, 5 (2): 119-191.
- Ávila E. 1993. Universidad de Barcelona. Departamento de biología animal. Facultad de biología. Sustancias naturales de moluscos opistobranquios: estudio de su estructura, origen y función en ecosistemas bentónicos. ISBN: 9788469342558.
- Botero A. M. 2017. Pontificia universidad javeriana facultad de ciencias. Programa de biología. Guía ilustrada básica para la identificación de los invertebrados marinos de isla fuerte, bolívar.
- Bradley T. J. 2013. *Animals extraños*. ISBN 978-1-4333-7094-6.
- Brattström, H. 1985. Rocky-shore zonation on the Atlantic coast of Panama. *Sarsia* 70: 179-216.
- Branch GM & AC Marsh. 1978. Tenacity and shell shape in six *Patella* species: adaptive features. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 34:111-130.

- Brand-Williams W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* p. 25-30.
- Bull A., Ward A. & Goodfellow M. 2000. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 64(3): 573-606.
- Carballo J. (2002). Los organismos marinos y las moléculas bioactivas. perspectiva actual. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México. Estación Mazatlán, Aptdo. 811, Mazatlán 82000, Sinaloa, México.
- Castaño, G y Moncaleano, A. 2007. Modelo de evaluación de la unidad productiva de pesca en Isla Fuerte, Cartagena, Bolívar. Univ. Empresa, Bogotá (Colombia). 6(13): 195-209.
- Camps D., S Ruffino., E Majul., A Joison. 2010. Bioquímica del estrés oxidativo. Página 9.
- Cárdenas Q.G. 2003. Evaluación del Krill *Euphausia superba*. Y su relación con el medio marino. *Inf. Inst. Mar Perú* 32(4):337-338.
- Correa, D. 2007. Análisis multitemporal de la transformación de las coberturas terrestres entre 1946 y 2006, como aporte al fortalecimiento del área marina protegida, Pontificia Universidad Javeriana Facultad De Estudios Ambientales Y Rurales. Trabajo De Grado Para Optar Por El Título De Ecólogo. Bogotá.
- Córdova D, C. 2018. Facultad de ciencias médicas escuela académico profesional de nutrición Contenido de compuestos. Fenólicos totales y actividad antioxidante in vitro en extractos hidroalcohólicos de *Chondracanthus chamissoi*.

- Coy E. 2007. Metabolitos con actividad biológica aislados de especies perteneciente a la familia laurácea, scientia et technica año XII, 33: 363-364.
- Cushman, J.H., 1989. Vertical size gradients and migratory patterns of two vertical species in the northern Gulf of California. *Veliger*, 32: 147-151.
- Denny MW, TL Daniel & Mar Koehl 1985. Mechanical limits to size in wave-swept organisms. *Ecological Monographs* 55:69-102.
- De Nys, R., J. C. Coll Y I. R. Price, 1991. Chemically mediated interactions between the red alga *Plocamium hamatum* and the soft coral *Sinularia cruciata* (Alcyonacea). *Mar. Biol.*, 108: 315-320
- Díaz, J. M, A. Sánchez y G. Díaz Pulido. 1996. Geomorfología y formaciones arrecifales recientes de Isla Fuerte y bajo Bushnell, plataforma continental del Caribe colombiano. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 25: 87-105.
- Doty, S. 1957. Rocky intertidal surfaces. E. W. Hedgth (Ed). *Treatise on marine ecology and Paleoecology*. Geol. Soc. Amer. Mem. Washington, D. C., 67(1):535-545.
- Dueñas P. R. 1999. Listado de poliquetos colectados durante los años 1979 1999 en la bahía de Cartagena y Golfo de Morrosquillo *Revista Milenio* 1(2): 9-18.
- Dueñas, R. 1979. Inventario preliminar de los poliquetos (Annelida) de aguas someras de la bahía de Cartagena y áreas adyacentes. Tesis universidad Jorge Tadeo lozano. 216 p. Bogotá.



- Echavarría B., A Franco., A Martínez. 2009. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano. *Vitae*, 16 (1): 126-131.
- Ehlers E. 1887. Report on the Annelids. Reports on the Result of Dredging, under the Direction of Pourtales & Agassiz in the Gulf of Mexico. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College* 15: 1–335.
- Fauré-Fremiet, E. 1950. Ecologie des *Cilies psammophiles* littoraux. *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique*, 84:35-75.
- Faulkner J. 2000. Marine pharmacology. *Antonie van Leeuwenhoek*. 77: 135-145.
- Fernández J., M Jiménez. 2006. Estructura de la comunidad de moluscos y relaciones tróficas en el litoral rocoso del estado Sucre. Venezuela. *Revista de Biología Tropical*. 54(3), 121-130.
- Franco, A. 2005. Oceanografía de la ensenada de Gaira –El Rodadero-, más que un centro turístico en el Caribe colombiano. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 58 p.
- Garzón-Ferreira, J. y J.M. Díaz. 2003. The Caribbean coral reefs of Colombia. 275-301. En: Cortés, J. (Ed.). *Latin American Coral Reefs*. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Gimenez Casalduero, F., 1997. Relaciones y estrategias tróficas de los opistobranquios: aposematismos, defensa química y retención de cloroplastos. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia.

- González, J. 2013. Efecto del oleaje en la estructura de la población y la supervivencia del alga parda *Egria menziesii* (Turner) Areshoug (1876), en la zona intermareal de la Bahía de Todos Santos, Baja California, México.
- Guzmán, M., Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias Básicas, programa de Química, Montería-Córdoba. 2014. Tesis Maestría: Contribución Al Estudio Químico Y Bioprospección De Organismos Marinos Del Caribe Cordobés.
- Harger JRE. 1970. The effect of wave impact on some aspects of the biology of sea mussels. *Veliger* 12:401-414.
- Haddad V. 2015. Miscellaneous marine toxins of medical significance. In: Gopalakrishnakone P, Vidal Haddad Jr., William R. Kem, Aurelia Tubaro, Euihyung Kim, editors. *Marine and freshwater toxins*. Dordrecht: Springer Netherlands. p. 1–15.
- Herrero B. A. 2015. Universidad de Las Palmas Gran Canaria. Tesis doctoral. Biología y ecología de tres especies de nudibrancos de la familia Polyceridae.
- Hooper, D.U., F. S. Chapin III, J. J. Ewel, A. Hector, P. Inchausti, S. Lavorel, J. H. Hawton, D. M. Lodge, M. Loreau, S. Naeem, B. Schmid, H. Stala, A. J. Symstad, J. Vandermeer & D.A. Wardle. 2005. Effects of biodiversity functioning: a consensus of current knowledge. *Ecol. Monogr.* 75: 3-35.
- Huertas, J. 2000. Caracterización estructural, composición y estado de salud de las formaciones coralinas de Isla Fuerte, Bajo Burbujas y Bajo Bushnell, Caribe colombiano. Universidad De Antioquia. Medellín.

- Ibarzábal D. 1989. Poliquetos de Punta del este, Isla de la juventud, Cuba. Familias Polynoidae, Sigalionidae, Chrysopetalidae y Amphinomidae. Poeyana 374: 1–19.
- Kudenov JD. 1995. Family Amphinomidae Lamarck, 1818. 207–215. En: Blake JA, B Hilbig y PH Scott, Eds. Taxonomic Atlas of the Benthic Fauna of the Santa Maria Basin and Western Santa Barbara Channel. Vol. 5. The Annelida Part 2. Santa Barbara Museum of Natural History, Santa Barbara.
- Lastra, M., de la Huz, R., Sánchez-Mata, A.G., Rodil, I.F., Aerts, K., Beloso, S., López, J., (2006). Ecology of exposed Sandy beaches in northern Spain: Environmental factors controlling macrofauna communities. Journal of Sea Research, 55: 128-140.
- Lara-Lara, J.R., et al. 2008. Los ecosistemas marinos, en Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 135-159.
- Liñero-Arana I., O. Diaz. 2010. Amphinomidae y Euprosinidae (Annelida: Polychaeta) de la costa nororiental de Venezuela. Lat. Am. J. Aquat. Res., 38(1): 107-120.
- Liñero-Arana I., O. Diaz. 2011. Poliquetos de Venezuela: Aspectos Biológicos y Ecológicos. Instituto oceanográfico de Venezuela. Universidad de oriente.
- Liñero-Arana I., G. Reyes-Vásquez. 1979. Nereidae (Polychaeta, Errantia) del golfo de Cariaco, Venezuela boletín instituto oceanográfico universidad de oriente 18:3-12.
- Merchán, A. 2010. Dinámica poblacional del chipi chipi *Donax denticulatus*, *D. striatus* y *Anomalocardia brasiliensis* en la bahía de

Cispatá, Córdoba, caribe colombiano. Universidad nacional de Colombia.

- Montaña M., G. Santafé. 2011. Evaluación de la actividad antioxidante de esponjas marinas del Caribe Colombiano. Actual Biol 33 (95): 173-181.
- Molina I., M. Londoño. 2015. Terebelidos (Annelida: Polychaeta: Terebellidae) de Isla Fuerte, Caribe Colombiano. bol. invest. Mar. Cost 44 (2). 253-279.
- McClintock J., Slattery M., Baker D. & Heine J. 1993. Chemical ecology of Antarctic sponges from McMurdo sound, Antarctica: Ecological aspects. J. Antarct. 28(5): 134-135.
- Norris, J. N. & Fenical. W. 1982. Chemical defenses in tropical marine algae. In. Atlantic Barrier Reef. Ecosystem at Carrie Bow cay, Belize. I.: Structure and communities. Rützler, K. & I.G. Macintyre (eds). Smithsonian. Contr. Mar. Sci., 12: 590-626.
- Pastrana O., G. Santafé., J. Quirós. 2016. Actividad antioxidante del erizo de mar *Mellita quinquiesperforata* (Leke) e identificación de sus compuestos lipídicos mayoritarios. Actual Biol 38 (104): 15-22.
- Orlando J. Pastrana, Gilmar G. Santafé y Omar L. Torres. (2019). Perfil lipídico y ensayos de las actividades antioxidante, insecticida y antialimentaria de la esponja marina *Lotrochota birotulata* (Iotrochotidae: Demospongiae).
- Orlando J. Pastrana, Gilmar G. Santafé y Omar L. Torres. (2017). Perfil de Ácidos Grasos y Evaluación de las Actividades Antioxidante y Antifúngica del Holotureo *Isostichopus badionotus*. Vol. 27(3), 3-10 (2016) doi: 10.4067/S0718-07642016000300002.

- Pawlik, J. R. (1993). Marine Invertebrate chemical defenses. Chem. Rev., 93: 1911-1922.
- Paine RT & SA Levin. 1981. Intertidal landscapes: disturbance and the dynamics of pattern. Ecological Monographs 51:145-178.
- Pettibone M. 1982. Classification of Polychaeta. En: S.P. Parker, ed. Synopsis and classification of living organisms. McGraw Hill. pp. 143.
- Pérez S., Levy A. y Gómez S. 1998. Presencia de lectinas, taninos e inhibidores de proteasas en algas marinas de las costas venezolanas. Act. Cient. Venez. 49: 144- 151.
- Pereira, R. C, Vasconcelos, M. A. 2014. Departamento de biología marina. Universidad Federal Fluminense. Defensa química en el alga roja *Plocamium brasiliense* : variabilidad espacial y acción diferencial en herbívoros Braz. J. Biol. vol.74 no.3 <http://dx.doi.org/10.1590/bjb.2014.0080>.
- Plana J., A. Mansilla., M. Palacios., P. Nelso. 2007. Estudio poblacional de *Macrocystis Pyrifera* (L.) C. Agardh (Laminariales: Phaeophyta) en ambientes protegidos y expuesto al olaje en tierra del fuego.
- Proksch, P. (1994). Defensive roles for secondary metabolites from marine sponges and sponge-feeding nudibranchs. Toxicon, 32(6): 639-655.
- Ramos A., Vizoso A., Piloto J., García A., Rodriguez C.A., Rivero R. (2003). Screening and antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. Journal of ethnopharmacology; 87: 241-246.
- Reitter RJ. 1995. Oxidative processes and antioxidative mechanisms. FASEB J; 9:526-33.

- Rodríguez H. 1979. Poliquetos de aguas someras colectados en las islas del Rosario Anales del Instituto de Investigaciones Marinas de Punta Betn 11: 27 29.
- Rodríguez H. 1988. Contribución al conocimiento de los Anelidos (ANNELIDA: Polychaeta) de aguas someras en la Bahía de Nenguange Parque Nacional Natural Tayrona, Colombia Trianea 2: 403-443.
- Rodríguez J.A. 2018. Estudio técnico-económico de tecnologías undimotrices para la generación eléctrica en la costa de la región de Valparaíso. Trabajo de grado. Universidad de Chile.
- Rouse G. W., F. Pleijel. 2001. Polychaetes Oxford University Press Inc Oxford xii+354pp.
- Sanchez, C. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Recuperado el 20 de mayo de 2013, de digital. csic ciencia en abierto: <http://digital.csic.es>.
- Sandoval C. 2017. Flora marina de Isla Pascua: Diversidad y efecto de la exposición al oleaje como factor determinante de sus comunidades.
- Sousa WP 1985. Disturbance and patch dynamics on rocky intertidal shores. In: Pickett STA & PS White (eds) The ecology on Natural Disturbance and patch dynamics: 101-124. Academic press, Inc. London.
- Sevillano, Y. 2017. Composición y zonación vertical de macromoluscos del litoral rocoso de isla fuerte, caribe colombiano. Trabajo de Grado. Universidad de Córdoba.

- Schmarda LK. 1861. Neue wirbellose Thiere beobachtet und gesammelt auf einer Reise um die Erde 1853 bis 1857. Erster Band: Turbellarien, Rotatorien und Anneliden, Zweite Hälfte. Wilhelm Engelmann, Leipzig. Pp. 165.
- Tait, R. 1971. Elementos de Ecología Marina. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 320 pp.
- Torres-Gonzalez D., Garcia-Guzman G. 2014. Análisis del papel de los caracteres foliares de *Cnidoscolus* (Euphorbiaceae) en la defensa contra herbívoros y patógenos. [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(14\)72087-X](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(14)72087-X).
- Thomas JA. 1994. Oxidative stress, oxidant defense and dietary constituents. Modern nutrition in health and disease. 8 ed. Williams and Wilkins; Philadelphia:501-12.
- Thomsen M. S. y Wernberg T., 2005, Miniview: What affects the forces required to break or dislodge macroalgae? Eur. J. Phycol., 40(2): 139–148.
- Valares M. A. 2011. Universidad de Extremadura. Departamento de biología vegetal, ecología y ciencia de la tierra. Área de ecología. Variación del metabolismo secundarios en plantas debido al genotipo y al ambiente.
- Verdes A, Simpson D, Holford M. 2017. For the Convergent Evolution of Toxin Homologs in Three Species of Fireworms (Annelida, Amphinomididae). PMID: 29293976.
- Viéitez, J.M. 2004. Historia natural de los Polychaeta. In: J.M. Viéitez, C. Alós, J. Parapar, C. Besteiro, J. Moreira, J. Núñez, J. Laborda, G. San

Martín & M.A. Ramos (eds.). Annelida: Polychaeta I. Fauna Ibérica vol. 25. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC Madrid, pp. 64-85.

- Williams, G. 1994. The relations between shade and molluscan grazing in structuring communities on amoderately-exposed tropical rocky shore. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. (178): 79-9
- Yáñez, R. B. 2009. El Colegio de la Frontera Sur. Taxonomía, preferencias tróficas y simbiontes del gusano de fuego *Hermodice carunculata* (Polychaeta: Amphinomidae).



## 10. ANEXOS

**Anexo A.** Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical DPPH• en extractos de ambiente expuesto en época seca.

[C]	Referencia	Blanco	Reacción	%Inh
500	0,298	0,003	0,261	13,4
1000	0,298	0,001	0,212	29,2
1500	0,298	0,005	0,176	42,6
2000	0,298	0,007	0,203	34,22
2500	0,298	0,005	0,165	49,6
3000	0,298	0,004	0,131	57,3

**Anexo A.** Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical DPPH• en extractos de ambiente protegido en época seca

[C]	Referencia	Blanco	Reacción	%Inh
500	0,298	0,004	0,256	14,6
1000	0,298	0,001	0,224	24,4
1500	0,298	0,002	0,217	27,11
2000	0,298	0,002	0,212	28,8
2500	0,298	0,001	0,206	30,5
3000	0,298	0,001	0,195	34,2
3500	0,298	0,003	0,177	41,02
4000	0,298	0,005	0,165	45,6
4500	0,298	0,003	0,142	52,6
5000	0,298	0,004	0,136	55,1

**Anexo B.** Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical DPPH• en extractos de ambiente expuesto en época lluviosa.

[C]	Referencia	Blanco	Reacción	%Inh
500	0,295	0,001	0,249	15,97
1000	0,295	0,001	0,223	24,51
1500	0,295	0,002	0,206	30,76
2000	0,295	0,001	0,179	39,63
2500	0,295	0,003	0,171	43,11
3000	0,295	0,005	0,159	47,67
3500	0,295	0,002	0,137	54,29
4000	0,295	0,005	0,134	56,24

**Anexo C.** Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical DPPH• en extractos de ambiente protegido en época lluviosa.

[C]	Referencia	Blanco	Reacción	%Inh
500	0,295	0,001	0,261	11,75
1000	0,295	0,002	0,238	20,81
1500	0,295	0,004	0,218	27,23
2000	0,295	0,002	0,190	36,24
2500	0,295	0,006	0,178	41,82
3000	0,295	0,006	0,169	44,96
3500	0,295	0,007	0,148	52,11
4000	0,295	0,009	0,128	59,73

**Anexo D.** Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical ABTS•<sup>+</sup> en extractos de ambiente expuesto en época seca.

[C]	Referencia	Blanco	Reacción	%Inh
500	0,644	0,001	0,533	17,5
1000	0,644	0,001	0,445	31,12
1500	0,644	0,002	0,428	33,9
2000	0,644	0,005	0,288	56,09
2500	0,644	0,004	0,247	62,23

**Anexo E.** Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical ABTS•<sup>+</sup> en extractos de ambiente protegido en época seca.

[C]	Referencia	Blanco	Reacción	%Inh
500	0,645	0,001	0,586	9,2
1000	0,645	0,002	0,497	23,3
1500	0,645	0,004	0,412	36,74
2000	0,645	0,006	0,381	41,83
2500	0,645	0,007	0,297	55,01

**Anexo F.** Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical ABTS•<sup>+</sup> en extractos de ambiente expuesto en época lluviosa.

[C]	Referencia	Blanco	Reacción	%Inh
500	0,693	0,001	0,541	22,17
1000	0,693	0,001	0,388	44,2
1500	0,693	0,001	0,290	58,3
2000	0,693	0,002	0,186	73,4
2500	0,693	0,004	0,138	80,6

**Anexo G.** Datos de la actividad antioxidante evaluada con el radical ABTS•+ en extractos de ambiente protegido en época lluviosa.

[C]	Referencia	Blanco	Reacción	%Inh
500	0,693	0,001	0,613	11,7
1000	0,693	0,001	0,417	39,9
1500	0,693	0,003	0,369	47,1
2000	0,693	0,004	0,278	60,4
2500	0,693	0,004	0,257	63,5

**Anexo H.** pruebas de normalidad y homocedasticidad a las variables de estudio.

Variable	Normalidad.lillieford.p.valor	Homocedasticidad.leve.p. valor
Individuo	0.3498323	1.0000000
Precipitación (mm)	0.0000000	0.3177313
Temperatura (°C)	0.0010781	0.0000006
Talla (cm)	0.0000002	0.8955971

**Anexo I.** variable temperatura medida en campo.

Temperatura del agua (°C)			
Época seca (Julio)		Época lluviosa (Octubre)	
Ingles	latal	Ingles	latal
29	30	28,8	29.3
28,5	29,8	27,6	28,6
28,3	28,2	27,7	28

**Anexo J.** Variable precipitación, época seca y lluviosa.

Precipitación (mm)	
Época seca	Época lluviosa
110,51	402,8

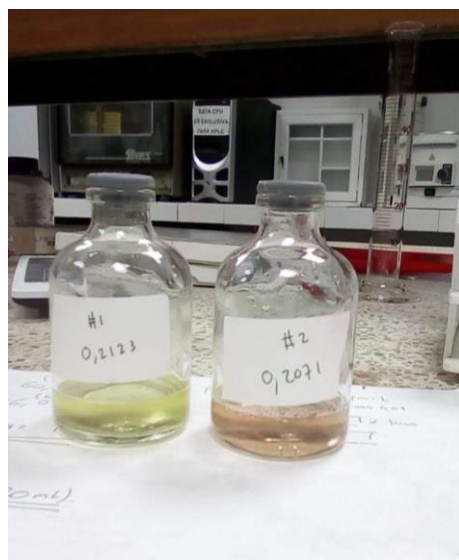
**Anexo K.** Talla de los organismos recolectados en ambiente expuesto y protegido en poca seca y lluviosa.

Talla (cm)			
Época seca		Época lluviosa	
Ingles	latal	Ingles	latal
4	7	10	8
5	3	9	7
4	5	7	8
6	4	12	9
3	5	9	8
5	6	10	10
6	3	7	9
7	8	8	10
5	5	9	9
3	6	10	11
6	8	9	10
8	4	7	10
8	5	8	9
6	4	9	7
5	7	10	8
7	6	9	10
8	4	10	6
3	8	8	10
6	5	7	8
7	6	9	8
8	7	10	10
6	8	9	9
5	5	10	8
4	8	8	11
7	4	10	8
6	8	9	8
5	6	10	11
6	7	10	10
8	4	8	9
8	5	9	7

**Anexo M.** Recolección de la especie *Hermodice carunculata*, en los sectores de estudio.



**Anexo N.** Extracto metanólico primario de ambiente protegido y expuesto al oleaje.



**Anexo O.** Identificación de la especie *Hermodice carunculata* en el laboratorio de zoología de la universidad de Córdoba. Fotografía: Ester Guerra

